



XII Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal

5 al 8 de abril del 2016

Libro Resumen



simposio.ibp.co.cu

www.ibp.co.cu

...del laboratorio al campo





**XII Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal
XII International Symposium on Plant Biotechnology**

5-8 de abril de 2016

RESÚMENES / ABSTRACTS

**Instituto de Biotecnología de las Plantas
Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
Santa Clara
Villa Clara
Cuba**



XII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

5-8 de abril de 2016

COMITÉ ORGANIZADOR/ Organizing Committee

Presidente de Honor

Dr.C. Andrés Castro Alegría

Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas

Rector

Presidente

Dr.C. Osvaldo Fernández Martínez

Instituto de Biotecnología de las Plantas

Director

Vicepresidente

Dr.C. Marisol Freire Seijo

Instituto de Biotecnología de las Plantas

Directora de Investigaciones

Secretario Ejecutivo

Dr.C. Borys Chong Pérez

Instituto de Biotecnología de las Plantas

Tabla de contenido

| | |
|--|-----|
| Cultivo <i>in vitro</i> / <i>In vitro</i> culture | 1 |
| Mejoramiento genético de plantas / <i>Plants breeding</i> | 36 |
| Compuestos activos en plantas / <i>Active compounds in plants</i> | 59 |
| Interacción planta-microorganismo / <i>Plant-microorganism interaction</i> | 84 |
| Biodiversidad y conservación de recursos fitogenéticos / <i>Biodiversity and Conservation of phylogenetics resources</i> | 99 |
| Otras temáticas / <i>Others</i> thematics | 106 |

TALLER CULTIVO *IN VITRO*

T1.1 Efecto del déficit hídrico sobre cambios morfo-fisiológicos y bioquímicos de plantas micropropagadas de piña 'MD-2' en la etapa final de aclimatización

René C. Rodríguez-Escriba^{1*}, Ibraín D. Rodríguez-Cartaya², Gustavo Y. Lorente¹, Daríel López¹, Roberto E. Izquierdo¹, Lucía S. Borroto¹, Camilo Bonet³, Yolanda Garza-García⁴, Carlos E. Aragón¹, Florencio E. Podestá⁵, Romelio Rodríguez¹, Justo L. González-Olmedo¹

¹Lab. de Agrobiología. Centro de Bioplantas. Univ. de Ciego de Ávila. Ciego de Ávila, Cuba.
*renecarlos@bioplantass.cu

²Facultad de Biología de la Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

³Instituto de investigaciones de Ingeniería Agrícola, La Habana, Cuba.

⁴Dpto. Biotecnología, Facultad Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, México.

⁵Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos. Fac. de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Univ. Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.

La tecnología actual de micropropagación de piña presenta problemas con la transición de las 2 plantas al campo, dichos problemas se asocian al drástico cambio de las condiciones ambientales unido al pobre endurecimiento de las plantas para su tránsito. Una posibilidad de su preparación es la inducción de mecanismos defensivos mediante el déficit hídrico y consigo la modulación de CAM, por lo que en este trabajo se estudiaron plantas crecidas durante 30 días en dos regímenes hídricos (plantas con riego y sin riego), después de este momento ambos grupos se regaron hasta la saturación del sustrato durante 15 días. Las determinaciones se realizaron en la hoja "D" con frecuencia quincenal. Se determinó el intercambio gaseoso, eficiencia en el uso del agua (EUA), porcentaje de captación de CO₂ en la noche, contenido de clorofilas, niveles de ácidos orgánicos, índice de succulencia (IS) y actividad de superóxido dismutasa (SOD) (EC 1.15.1.1). A los 15 días las plantas sin riego tuvieron la mejor respuesta para su traslado a campo, con el aumento de la expresión de CAM, sustentado por la disminución del contenido de clorofilas totales y por el incremento del porcentaje de asimilación de

CO₂ durante la noche, EUA, IS y actividad SOD. A los 30 días las plantas sin riego tuvieron una respuesta CAM de mayor intensidad, con el 100 % de captación de CO₂ durante la noche, pero su rápida recuperación con el establecimiento del riego hasta la saturación del sustrato, lo cual demostró alta tolerancia a la sequía y elevada plasticidad metabólica.

Palabras clave: ciclo CAM, plantas *in vitro*, fotosíntesis, metabolismo de hidratos de carbono

Effect of water deficit on morpho-physiological and biochemical changes in 'MD-2' micro-propagated pineapple plants at the end of the acclimatization stage

Current technology of pineapple micro-propagation has problems with the plants transition to field, these problems are associated to drastic changes of environmental conditions linked to poor hardening plant for such transit. A possibility of preparation is the induction of defense mechanisms to drought stress and get modulating CAM, The objects of this paper was study plants grown for 30 days in two water status (well-watered plants and non-watered plants) after 30 days both groups were full-watered during 15 days. Measurements were made on D-leaf, in which were determinates the gas exchange, water-efficiency use (WEU), night CO₂ uptake percentage, chlorophyll content, organic acids levels, succulence index (IS) and superoxide dismutase activity (SOD) (EC 1.15.1.1). After 15 days of drought, plants had the best response to field transfer, with increase in CAM expression, supported by the decline in total chlorophyll content and increases in the night CO₂ uptake percentage, WEU, SI, and SOD activity. After 30 days of drought plants had a strong response CAM, with 100 % of CO₂ uptake during night, but his quick recovery when it were full watered, showing high drought tolerance and great metabolic plasticity.

Keywords: CAM cycle, carbohydrates metabolism, *in vitro* plants, photosynthesis

T1.2 Efectividad de los ultrasonidos en la desinfección de semillas de *Orobanche ramosa* L. para su cultivo *in vitro*

Rosario Domínguez Larrinaga*, Yunior Miguel Morán Gómez, Isabel Márquez Leyva

Instituto de Investigaciones del Tabaco. Carretera a Tumbadero, km 8 ½, San Antonio de los Baños, Artemisa. Cuba. *biologia7@iitabaco.co.cu; rosariodomlar@gmail.com

Orobancha ramosa L. es una maleza parásito obligado de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que afecta el rendimiento y calidad de las cosechas. Establecer sistemas *in vitro* que permitan estudiar potenciales biocontroles constituye un elemento importante para su lucha. El proceso de desinfección de las semillas de *O. ramosa* para su cultivo *in vitro* generalmente es poco efectivo, pues las irregularidades de su testa impiden la acción de los desinfectantes. Los ultrasonidos y una solución limpiadora se aplican para eliminar suciedades y contaminantes superficiales. El objetivo fue determinar la efectividad de los ultrasonidos en la desinfección de semillas de *O. ramosa* para su cultivo *in vitro*. El efecto mecánico de tres tiempos de exposición (3, 5 y 10 min) a los ultrasonidos sobre la integridad de las semillas se determinó en mediante observación al microscopio estéreo. Tres métodos de desinfección utilizando Formaldehído 0.5 %; Hipoclorito 5 % e Hipoclorito 1 %, se probaron con y sin la aplicación de ultrasonidos. Las semillas desinfectadas se sembraron en los medios de cultivo AN, PDA y MS para comprobar la eficacia de la desinfección. La viabilidad de las semillas se evaluó con tinciones de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 1 %. Para corroborar la viabilidad se estableció el patosistema Orobancha-tabaco en suelo. Solamente a los tres minutos de exposición no se apreciaron daños mecánicos en las semillas. El método de desinfección que empleó Hipoclorito 5 % combinado con ultrasonidos fue el más efectivo, pues no mostró contaminación en ninguno de los tres medios de cultivo utilizados. Los ensayos de viabilidad con TTC (1 %) revelaron que todos los métodos de desinfección utilizados conservaron la viabilidad de las semillas, lo que se corroboró con los resultados obtenidos en el patosistema en suelo. Se demostró que la utilización de ultrasonidos incrementa la efectividad de la desinfección de semillas de *O. ramosa*.

Palabras clave: cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio, hipoclorito, tabaco, viabilidad

Effectiveness of the ultrasonic treatment in the *Orobancha ramosa* L. seeds disinfection for *in vitro* cultivation

Orobancha ramosa L. is an obligate parasite weed of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) that affects the yield and quality of the crops. To establish *in vitro* systems that allow studying potential biocontrol constitutes an important element for their fight. Usually, the process of *O. ramosa* seeds disinfection for *in vitro* cultivation is not very effective, because its cover ruggedness obstruct the bleaches action. Both, ultrasonic treatment and a cleaning solution were applied to eliminate dirties and superficial pollutants. The aim of this work was to determine the effectiveness of the ultrasonic treatment in the *O. ramosa* seeds disinfection for *in vitro* cultivation. The mechanical effect of three exposition times (3, 5 and 10 min) to ultrasonic treatment over seeds integrity was determined by means of observations to the stereo. Three disinfection methods using Formaldehyde 0.5 %, Hypochlorite 5 % and Hypochlorite 1 % with and without the ultrasonic application were tested. To check the effectiveness of the disinfection the disinfected seeds were spread in NA, PDA and MS media. To evaluated the viability of the seeds, chloride of 2,3,5-tripheniltetrazolium (TTC) stain (1 %) was used. To corroborate this, a broomrape-tobacco pathosystem in soil was stablished. Only to the three minutes of exposition, were not appreciated seeds mechanical damages. Hypochlorite 5 %-ultrasonic disinfection method was the most effective, because it does not showed contamination in none of the three media. The viability assays with TTC (1 %) revealed that all disinfection methods conserved the viability seeds. Results in soil pathosystem corroborated this viability. We demonstrated that ultrasonic treatment increases the effectiveness of the disinfection of *O. ramosa* seeds.

Keywords: chloride of 2,3,5-tripheniltetrazolium, hypochlorite, tobacco, viability

T1.3 Producción de material de plantación mediante cultivo *in vitro* en malanga del género '*Alocasia*'

Diosdada Galvez*, Sergio Rodríguez, Yoel Beovides, Ania Robaina, Maricel Bauta, Eneida Otero y Frasmacio Turiño

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apdo. 6, Sto. Domingo, V.C., Cuba. *propag.biotec@inivit.cu

La malanga *Alocasia* constituye una opción para producir alimento animal. Sin embargo, en la actualidad no es un género comercial, por lo que la disponibilidad del material de plantación es muy limitada. La biotecnología ofrece una vía rápida de multiplicación de material vegetal mediante el cultivo *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue establecer una metodología para la propagación masiva del género *Alocasia* mediante cultivo *in vitro*. Se desarrollaron diferentes experimentos para lograr protocolos eficientes en la desinfección previa al establecimiento, el tipo y concentración de reguladores de crecimiento (RC), y el efecto del estado físico del medio de cultivo en la fase de multiplicación y en el enraizamiento. Se evaluó la multiplicación en sistemas de cultivo semiautomatizados y la fase de aclimatización. Se determinó que la desinfección debe realizarse con hipoclorito de sodio al 3.0 % durante 20 minutos. En el establecimiento y enraizamiento no es necesario utilizar reguladores del crecimiento, mientras que en la multiplicación se redujo a 3.0 mg ml⁻¹ de 6 BAP. Con el medio de cultivo semisólido se logró el mejor crecimiento morfofisiológico de los explantes y un coeficiente de multiplicación promedio luego de tres subcultivos de 4.02. El coeficiente de multiplicación cuando se utilizó el sistema de inmersión temporal fue de 12.6. Se estableció una metodología para la multiplicación *in vitro* del cultivar 'Verde' del género *Alocasia*, así como las condiciones óptimas para su aclimatización. Estos resultados tienen una gran importancia para potenciar el uso de este género como alimento animal a partir de semilla de alta calidad.

Palabras clave: malanga, desinfección, establecimiento y aclimatización

T1.4 Micropropagación de *Minthostachys mollis* "muña"

Paula García Godos Alcázar^{1*}. Tannia Liz Alfaro Astorima²

¹Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Portal Independencia N° 57 Ayacucho. Perú.
*paulagga30@hotmail.com

La investigación se realizó con la finalidad de micropropagar *Minthostachys mollis* "muña" tomando en cuenta los principales factores que

influyen en todo el proceso, los objetivos fueron estandarizar el proceso de desinfección, determinar el medio de cultivo adecuado y evaluar el crecimiento *in vitro* de *Minthostachys mollis* "muña". Los explantes se obtuvieron de ejemplares silvestres del distrito de Quinua (3 396 m.s.n.m.) y se desinfectaron con NaClO (1.5 %) durante 20 minutos lo que permitió obtener el porcentaje más alto de explantes viables (60 %). Para controlar la oxidación, se utilizaron diferentes antioxidantes (ácido ascórbico, ácido cítrico y carbón activado), logrando obtener un 90 % de explantes sin oxidación en el medio de cultivo MS con ácido cítrico (100 mg l⁻¹) en condiciones de oscuridad. La germinación de semillas se realizó en placas con algodón humedecido logrando obtener un 76.4 % de germinación, frente a un 29.9 % en frascos con medio de cultivo. Se probaron distintos medios de cultivo para la etapa de propagación, los resultados óptimos se lograron en los medios de cultivo MS con 1.0 mg l⁻¹ de BAP y agua de coco (AC) o jugo de tomate, mientras que el tratamiento con el medio de cultivo con 1.0 mg l⁻¹ de ANA produjo un 88 % de formación de callos. Los medios de cultivo con suplementos orgánicos (agua de coco, jugo de tomate) estimularon el desarrollo de los explantes. La etapa de enraizamiento logró un 85 % de formación de raíces, en los tratamientos con la auxina AIB o suplementado con AC y la longitud de las raíces fue mayor con AIB + jugo de tomate. El mayor porcentaje de supervivencia en la aclimatación fue de 87.5 % en plántulas enraizadas con AIB y jugo de tomate.

Palabras clave: antioxidantes, micropropagación, *Minthostachys* muña

Micropropagation of *Minthostachys mollis* "muña"

The research was conducted in order to micropropagate *Minthostachys mollis* "muña" taking into account the main factors influencing the process, the objectives were to standardize the disinfection process, determine the appropriate culture medium and to evaluate the *in vitro* growth of *Minthostachys mollis* "muña". The explants were obtained from wild specimens Quinoa district (3396 m) and disinfected with NaClO (1.5 %) for 20 minutes, which yielded the highest percentage of viable explants (60 %). To control the oxidation, we used different antioxidants (ascorbic acid, citric acid and activated carbon), achieving a 90 % no rust explants on MS medium with citric acid (100 mg l⁻¹)

¹) in the dark. Seed germination was performed on plates with moistened cotton being able to obtain a 76.4 % germination, compared to 29.9 % in flasks with culture medium. We tested different culture media for the propagation step, optimal results were achieved in MS medium supplemented with 1.0 mg l⁻¹ BAP and coconut water (AC) or tomato juice, while treatment with the medium with 1.0 mg l⁻¹ of NAA produced 88 % of callus formation. The culture media with organic supplements (coconut water, tomato juice) stimulated the development of the explants. The rooting stage achieved a 85 % root formation in auxin treatments AIB or supplemented with CA and root length was greater with IBA + tomato juice. The highest percentage acclimatization survival was 87.5 % in rooted plantlets with AIB and tomato juice.

Keywords: antioxidants, micropropagation, *Minthostachys* muña

T1.5 Introducción *in vitro* de *Caesalpinia spinosa*

Paula García Godos Alcázar^{1*}, Raquel Salas Ripaz²

¹Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Portal Independencia N° 57 Ayacucho. Perú.
*paulagga30@hotmail.com

La investigación se desarrolló, con la finalidad de identificar protocolos para la propagación *in vitro* de *Caesalpinia spinosa* "tara". Planteándose como objetivos: Optimizar los métodos de desinfección, estandarizar el medio de cultivo *in vitro* y desarrollar un protocolo de micropropagación. Las semillas procedentes de la localidad de Ocopa (distrito de Pacaicasa) a 2 530 m.s.n.m, fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1.0 % y dos gotas de tween 20 durante diez minutos, las semillas fueron germinadas en placas petri con algodón y ácido giberélico al 1.0 ppm, obteniéndose un 95 % de germinación. En la fase de establecimiento de los hipocotilos se utilizó los constituyentes del medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962), suplementado con mio-inositol (0.1 g l⁻¹), carbón al 2 %, agua de coco al 15 % y ácido ascórbico (100 mg l⁻¹) lo que alcanzó un 75 % de explante sin oxidación. En la etapa de multiplicación de las yemas laterales, nudos y entrenudos, se obtuvo éxito utilizando el

medio dd cultivo Murashige y Skoog suplementado con ANA (1.5 ppm), BAP (0.25 ppm) y agua de coco al 15 %, logrando un 85 % de brotación y mayor número de hojas. La etapa de enraizamiento se trabajó con el medio de cultivo Murashige y Skoog a la mitad de su concentración adicionado con ANA (1.0 ppm) y agua de coco al 15 %, logrando un 76.5 % de plántulas con formación de raicillas. Lográndose establecer los métodos de desinfección, estandarización del medio de cultivo y la micropropagación de *Caesalpinia spinosa*.

Palabras clave: enraizamiento, medio de cultivo, micropropagación

Introduction *in vitro* of *Caesalpinia spinosa*

This research was conducted with the aim of identifying protocols for *in vitro* propagation of *Caesalpinia spinosa* "tara". The objectives were: Optimize disinfection methods, standardize the *in vitro* culture medium and develop a micropropagation protocol. Seeds from the town of Ocopa (Pacaicasa district) to 2 530 m, were disinfected with sodium hypochlorite (NaClO) at 1.0 % and two drops of Tween 20 for ten minutes, seeds were germinated in petri dishes with cotton and gibberellic acid to 1.0 ppm, resulting in a 95 % germination. In the phase of establishing hypocotyls constituents used Murashige and Skoog (1962), supplemented with myo-inositol (0.1 g l⁻¹), 2 % carbon, coconut water and 15 % ascorbic acid (100 mg l⁻¹), which reached 75 % explant without oxidation. In the multiplication phase of lateral buds, nodes and internodes, success was obtained using Murashige and Skoog culture medium supplemented with NAA (1.5 ppm), BAP (0.25 ppm) and coconut water to 15 %, achieving a 85 % of sprouting and more leaves. The rooting stage is worked with Murashige and Skoog medium to half strength with ANA added (1.0 ppm) and coconut water to 15 %, achieving a 76.5 % formation of seedlings rootlets. Establish achieving disinfection methods, standardization of the culture medium and micropropagation of *Caesalpinia spinosa*.

Keywords: medium, micropropagation, rooting

T1.6 Establecimiento de callos embriogénicos a partir de secciones de plantas *in vitro* del híbrido babaco [*Vasconcellea x helbornii* (Badillo) Badillo]

Mónica Jadán Guerrero^{1*}, Rafael Gómez Kosky²,
Idalmis Bermúdez Carabaloso²

¹Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av.
General Rumiñahui S/N. Sangolquí. Ecuador. CP.
170501. *mbjadan@espe.edu.ec

²Instituto de Biotecnología de las Plantas.
Universidad Central Marta Abreu de las Villas.
Carretera a Camajuani Km 5.5. Santa Clara.
Cuba. CP 54 830.

El Ecuador es considerado el centro de biodiversidad de las papayas de montaña. Las especies del género *Vasconcellea*, crecen en su estado silvestre a 2 000 msnm. Dentro de las 15 especies de *Vasconcellea* que posee el Ecuador se encuentra el babaco, el cual tiene una reproducción asexual, es decir por estacas e injertos. Los nuevos sistemas que conducen a la obtención de plantas libres de patógenos, la propagación masiva, el mejoramiento genético mediante la inducción de mutaciones, la selección *in vitro* y la ingeniería genética en varias especies de plantas se han apoyado en los métodos biotecnológicos que permiten vencer muchas de las limitaciones anteriormente indicadas. Para la expresión de la totipotencia celular en los cultivos vegetales *in vitro* existen dos vías, la organogénesis y la embriogénesis somática. En babaco no se ha logrado obtener resultados positivos en este campo. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar diferentes explantes a partir de segmentos de plantas cultivadas *in vitro* del híbrido de babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) para la formación de callos con estructuras embriogénicas. Se tomaron tres secciones: S1: segmento de ápice de 5.0 mm de longitud (a la cual se eliminó el meristemo) y S2: segmento de tallo (5mm a partir del ápice) y S3: segmento de hoja (1 cm²); se utilizó el medio de cultivo propuesto por Nitsh y Nitsh (1969) suplementado con 1.5 mg l⁻¹ de 6-bencilaminopurina (6-BAP) y 1.5 mg l⁻¹ de ácido indolacético (AIA). En los tratamientos donde se utilizaron explantes de los segmentos S1 y S2, se lograron los mejores resultados. El uso de secciones de plantas *in vitro* como explantes para la formación de callos en esta especie vegetal abre nuevas posibilidades para su propagación *in vitro*.

Palabras clave: ápices, callogénesis, embriogénesis somática, *Vasconcellea x heilbornii*

Embryogenic callus establishment from segments of hybrid babaco [*Vasconcellea x heilbornii* (Badillo) Badillo] *in vitro* plants

Ecuador is considered the center of biodiversity of mountain papayas. Species of *Vasconcellea* genus grow at 2 000 m in the wild. Babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) is among the 15 *Vasconcellea* species from Ecuador, which has an asexual reproduction and is usually propagate by cutting and grafts. New systems leading to obtaining pathogen-free plants, mass propagation, breeding by inducing mutations *in vitro* selection and genetic engineering in several plant species have relied on biotechnological methods to overcome many of the above limitations. There are two ways being used to cell totipotency *in vitro* plant culture expression: organogenesis and somatic embryogenesis. No positive results have been achieved in babaco in this field. The present work aimed to evaluate different explants from *in vitro* plants section of hybrid babaco to callus formation with embryogenic structures. Analyses were carried out in three sections from plants: S1 apex segments (without meristem), S2 stem segments (5 mm from the apex) and S3 leaf segments (1 cm²), cultured in the medium proposed by Nitsh and Nitsh, (1969) supplemented with 1.5 mg l⁻¹ of 6-benzylaminopurine (6-BAP) and 1.5 mg l⁻¹ of indoleacetic acid (IAA). The best result achieved on stem section S1 and S2. The use of *in vitro* plants segments as explants for callus formation in this plant species opens up new possibilities for *in vitro* propagation.

Keywords: apex, callus formation, somatic embryogenesis, *Vasconcellea x heilbornii*

T1.7 Micropropagación de chile habanero (*Capsicum chinense* jacq.) a bajo costo

Alejandrina Robledo-Paz*, Ma. Josefina Jimarez-Montiel, Víctor M. Ordaz-Chaparro, Libia I. Trejo-Téllez, Juan C. Molina-Moreno

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo,
Estado de México. CP. 56 230.
*arobledo@colpos.mx

La técnica de cultivo de tejidos podría ayudar a mejorar la producción de plantas de chile habanero; no obstante, el agente gelificante, los niveles altos de sales y concentraciones de

sacarosa utilizados en los medios de cultivo, elevan los costos de producción y limitan la adaptación de las plantas regeneradas a las condiciones *ex vitro*. En este estudio se evaluó el efecto de las mezclas de los sustratos perlita-fibra de coco, fibra de coco-roca volcánica, vermiculita-perlita, y perlita-roca volcánica en conjunto con diversos medios de cultivo, sobre la regeneración *in vitro* de plantas a partir de embriones. La diferenciación de brotes adventicios sobre sustratos fue incipiente o inexistente. Inducir la formación de brotes en agar y su desarrollo y enraizamiento en sustratos permitió la regeneración de plantas. El mayor número de brotes por explante se observó en un medio de cultivo con las sales de Murashige y Skoog (MS) al 100 %, 15 o 30 g l⁻¹ de sacarosa, 4 mg l⁻¹ bencilaminopurina, 0.3 mg l⁻¹ de ácido indolacético y vermiculita-perlita o agar. El porcentaje de enraizamiento más alto se obtuvo con los tratamientos que consistían de las sales MS al 50 o 100% o las sales de Arnon y Hoagland (H), 15 g l⁻¹ de sacarosa, 1 mg l⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB) y perlita-roca volcánica, vermiculita-perlita o agar (88-90%). La mayor tasa de supervivencia, número de hojas, longitud de la planta, y el diámetro del tallo durante la aclimatación se obtuvieron con los medios de cultivo que contenían las sales MS 50 %, MS 100 % o sales H, 15 g l⁻¹ de sacarosa, 1 mg l⁻¹ de AIB y vermiculita-perlita, perlita-roca volcánica o agar. Es factible el uso de medios de cultivo menos concentrados y sustratos para la micropropagación del chile habanero. El protocolo desarrollado reduce significativamente los costos de producción.

Palabras clave: chile habanero, costos, medio de cultivo, regeneración *in vitro* de plantas, sustratos

Micropropagation of habanero chili (*Capsicum chinense* jacq.) at low cost

The tissue culture technique could improve habanero chili plant production; however, the gelling agent, high levels of salts and sucrose concentrations used in the culture media raise production costs and limit the adaptation of regenerated plants to *ex vitro* conditions. In this study, the effect of the substrates perlite-coconut fiber, coconut fiber-volcanic rock, vermiculite-perlite, and perlite-volcanic rock in conjunction with various culture media on *in vitro* plant regeneration from embryos was evaluated. The differentiation of adventitious shoots on substrates was scarcely observed or non-existent. Inducing

the formation of shoots on agar and their development and rooting on substrates allowed for plant regeneration. The greatest number of shoots per explant was observed on culture media with Murashige and Skoog salts (MS) 100 %, 15 or 30 g l⁻¹ sucrose, 4 mg l⁻¹ benzylaminopurine, 0.3 mg l⁻¹ indolacetic acid, and vermiculite-perlite or agar. The highest rooting percentages were obtained for treatments with culture media which contained MS 50 %, MS 100 % or Arnon and Hoagland salts (H), 15 g l⁻¹ sucrose, 1 mg l⁻¹ indolebutyric acid, and perlite-volcanic rock, vermiculite-perlite or agar (88-90 %). The highest survival rate, number of leaves, plant length, and stem diameter during acclimatization were obtained with media containing MS 50 %, MS 100 % or H salts, 15 g l⁻¹ sucrose, 1 mg l⁻¹ indole-3-butyric acid, and vermiculite-perlite, perlite-volcanic-rock or agar. It is feasible to use culture media less concentrated and substrates for the micropropagation of the habanero chili. The protocol developed significantly reduces production costs.

Keywords: costs, culture medium, *in vitro* plant regeneration, habanero chili, substrates

T1.8 Combined application of Virasole and Zidovudine for elimination of PVM and PVS viruses from *in vitro* potato plantlets

K. Magyar-Tábori, A. Hanász, N. Mendler-Drienyovszki, L., Zsombik, J. Dobránszki*

Research Institute of Nyíregyháza, University of Debrecen P.O.Box 12 Nyíregyháza H-4400, Hungary. *dobranszki@freemail.hu

We evaluated the phytotoxic and virus-eliminating effects of two antiviral compounds, Virasole (V; inhibition of IMP dehydrogenase, RNA polymerase, RNA capping, immunomodulatory and lethal mutagenic effect) and Zidovudine (Z; nucleoside reverse transcriptase inhibitor), on three potato breeding clones infected with PVM and/or PVS viruses (clones V-1 and V-2 infected by both viruses, and clone V-3 infected by PVM). Level of phytotoxicity was determined by the evaluation of shoot growth, and results were analysed by ANOVA followed by Tukey-test. Virus infection of the plantlets was evaluated by DAS-ELISA. Neither of antiviral compounds had virus-eliminating effect if applied alone in a concentration range of 25-100 mg l⁻¹. Virasole, when applied in higher than 25 mg l⁻¹ concentration, had a strong phytotoxic effect and

inhibited the shoot growth of plantlets while Zidovudine did not cause phytotoxicity. Virasole (V) and Zidovudine (Z) were applied also in combination for 4 weeks in the Murashige-Skoog medium, as follows: 10 mg l⁻¹ V+ 40 mg l⁻¹ Z, 20 mg l⁻¹ V+ 30 mg l⁻¹ Z, 30 mg l⁻¹ V+ 20 mg l⁻¹ Z, 40 mg l⁻¹ V+ 10 mg l⁻¹ Z. After treatment by 30 mg l⁻¹ V+ 20 mg l⁻¹ Z potato clone V-1 was proven to be free of both PVM and PVS in 33 % and clone V-3 in 66 % from PVM. PVS could be eliminated from clone V-2 by application of 40 mg l⁻¹ V+ 10 mg l⁻¹ Z, however no PVM-free plant material could be gained from this clone. Combined application of the both antiviral compounds can be a useful alternative in the chemotherapy of virus-infected potato genotypes, but the success depends both on the potato clone and on the virus species and also on their interactions. Present experiments were supported by the Hungarian Government; project number: AGR_PIAc_13_1_2013_0006 ("Research on disease resistance of potato for decreasing the effect of climate change").

Keywords: Carlaviruses, virus-free plant material, PVM, PVS, potato

T1.9 Slow growth storage of *in vitro* shoot culture of different plant species

Nóra Mendler-Drienyovszki*, Katalin Magyar-Tábori, László Zsombik, Judit Dobránszki

Research Institute of Nyíregyháza, University of Debrecen P.O.Box 12 H-4400 Nyíregyháza, Hungary. *mendlernedn@gmail.com

Collection of plant genetic resources are of a great importance because several plant species have been become extinct, threatened and/or endangered. Furthermore the maintenance of wild relatives of several cultivated plant species in the gene banks plays an important role in plant breeding. In some case the seed storage technique is impracticable or problematic because the plant does not develop seeds so their storage possible only by using tissue culture methods. The *in vitro* storage can be achieved either by slow growth storage or cryopreservation. The *in vitro* gene bank of the Research Institute of Nyíregyháza was established first for potato clones, varieties and breeding lines, later also for woody, ornamental, fruit and forest plants (plum, pear, apple) maintained by *in vitro* shoot cultures of axillary shoots. The main aim of our experiments were studying the regeneration

capacity of *in vitro* plantlets of apple, potato and plum after 6-, 12-, 18-, 24-month-long slow growth storage. The studied plant species and cultivars showed 100 % regeneration capacity ever 24 months, no any visible damage could be observed in the regenerated plantlets. This study was supported by the "53/2011 (VI.10.) regulation of the Minister for Rural Development from the detailed conditions of the use of support to the ex situ conservation of plant genetic resources and micro-organism from the European Agricultural Fund for Rural Development".

Keywords: *in vitro* gene bank, micropropagation, regeneration capacity

T1.10 Obtención de brotes epicórmicos de *Prosopis hassleri* Harms para utilización en cultivo *in vitro*

Benítez Núñez, JV^{1*}, Villalba, N², Vogt, C³, Samudio Oggero, A¹, Nakayama, HD¹

¹Laboratorio de Biotecnología del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas-Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Nacional de Asunción *juanvenabe@gmail.com

²División de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción

³Dpto. de Herbario, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción

Prosopis hassleri es una especie de gran valor e importancia maderable, distribuida en la región Chaqueña del Paraguay y la Argentina. Su alto hibridismo intra e inter específico dificulta la mantención de características deseables propagando por semillas botánicas. La propagación clonal, es una técnica eficaz en la producción de plantines que podría solucionar esa problemática, está demostrado que del rejuvenecimiento de las plantas se obtienen mejores resultados en cuanto a la propagación vegetativa. El objetivo del trabajo es evaluar la producción de brotes epicórmicos de estacas de *P. hassleri* para cultivo *in vitro*. Fueron utilizados diferentes diámetros de estacas provenientes de plantas madre de diferentes sitios del Departamento de Presidente Hayes, Paraguay. Las colectas de las estacas se realizaron de cinco sitios de 20 km de distancia entre cada punto. Las estacas obtenidas fueron trasportadas al CEMIT

en condiciones refrigeradas. En el laboratorio se unificaron los cortes a 20 cm de largo y dos rangos de diámetro, menor a 1 cm y mayor o igual a 1 cm hasta 2 cm y fueron colocadas en botellas de plásticos PET de 11 cm de diámetros y 35 cm de alto, con sustrato hasta la mitad, donde se colocaron las estacas en posición vertical y cerrado herméticamente. Se utilizó un diseño factorial (5 x 2) teniendo de esta manera 10 tratamientos y 5 repeticiones, el análisis estadístico se realizó con el programa InfoStat. El tratamiento que presentó mayor número de brotes fue el correspondiente a un diámetro superior a un centímetro, con 2.8 brotes, habiendo diferencias significativas. Según las condiciones del experimento se concluye que: es posible obtener brotes epicórmicos de *P. hassleri* a partir de estacas para poder someterlos a cultivo *in vitro*. Palabras clave: *Prosopis hassleri*, brotes epicórmicos, cultivo *in vitro*

Obtaining epicormic sprout from *Prosopis hassleri* Harms for *in vitro* culture

Prosopis hassleri is forest specie with a great value and importance like wood, distributed in the Chaco region of Paraguay and Argentina. Its high intra- and inter specific hybridization difficult the maintaining of desirable characteristics by botanical seeds. Clonal propagation is an effective technique in the production of seedlings that could solve this problem, it is shown that the rejuvenation of the plants perform better for vegetative propagation. The aim of the study was to evaluate the production of epicormic sprouts stakes from *P. hassleri* for *in vitro* culture. Different diameters of stem were utilized from the Department of Presidente Hayes, Paraguay. Collections of cuttings were made in five sites in 20 cm distance between each point. Stakes obtained were transported to CEMIT under refrigerated conditions. In the laboratory, 20 cm long and two ranges of diameter less than 1 cm and greater than or equal to 1 cm to 2 cm were standardized and were placed in plastic bottles PET of 11 cm diameter and 35 cm high, with substrate halfway, where the cuttings were placed upright and sealed. a factorial design (5 x 2) thus having 10 treatments and 5 repetitions, statistical analysis was performed with the InfoStat program was used. The treatment had a higher number of sprouts was that for more than one centimeter, with 2.8 sprouts, having significant differences across. Under the terms of the experiment it is concluded that it is possible to obtain epicormic

sprouts of *P. hassleri* from stakes to submit to *in vitro* culture.

Keywords: *Prosopis hassleri*, epicormics sprouts, *in vitro* culture

T1.11 Recuperación del cultivo del limón criollo (*Citrus aurantifolia*) mediante técnicas Biotecnológicas

Yanet Hernández Jerez*, Misterbino Borges García, Juan José Silva Pupo

Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Universidad de Granma. Carretera Vía manzanillo, Km 17 ½, Peralejo, Bayamo, Granma. *yhernandezj@udg.co.cu

Las producciones de cítricos se ven afectadas por plagas y enfermedades que constituyen amenazas para las producciones citrícolas. El presente trabajo se desarrolló en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Granma, en el período comprendido de Octubre a Febrero del 2016, con el objetivo de establecer segmentos nodales de (*Citrus aurantifolia*). Los segmentos nodales fueron establecidos en el medio de cultivo basal MS (Murashige y Skoog). La desinfección se realizó empleando diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio (0.5, 1.0 y 1.5) y durante tres intervalos de tiempo (5, 10 y 20 minutos). A los siete días de establecidas, se determinó los porcentajes de contaminación, establecimiento y necrosis de los explantes. A los 30 días se determinó indicadores morfológicos número de yemas, número de hojas y longitud del vástago. En la fase de multiplicación de los segmentos nodales se combinaron diferentes concentraciones Pectimorf® (10, 15 y 20 mg l⁻¹). A los 30 días se evaluó las variables morfológicas número de brotes, número de yemas, longitud de los brotes, número de hojas y longitud de la raíz. Los resultados demostraron que la utilización de hipoclorito de sodio al 1 % durante 20 minutos fue efectiva en la desinfección, con un alto porcentaje de establecimiento (76 %) y un desarrollo vegetativo vigoroso. En la fase de multiplicación los mayores valores de número de brotes (1.82 y 2.20) y número de yemas (3.44 y 3.42) se obtuvieron con la adición de 10 mg l⁻¹ de Pectimorf® al medio de cultivo respectivamente.

Palabras clave: cítricos, cultivo *in vitro*, reguladores del crecimiento

T1.12 Optimización del protocolo de regeneración y transformación *in vitro* de chile 'Jalapeño' (*Capsicum annuum* var. L)

Karen Heidi Lingow, Guy Albert Cardineau*

Centro de Agrobiotecnología/Centro de Biotecnología, Escuela Nacional de Posgrado en Ciencias Ingeniería y Tecnologías, Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey, Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México. *guy.cardineau@itesm.mx

El chile (*Capsicum annuum*) es uno de los cultivos de mayor importancia económica en todo el mundo. México es considerado una de las regiones más importantes para la domesticación del chile, donde es cultivada y consumida como parte de la dieta diaria. El 'Jalapeño' (*C. annuum* var L.) es de las variedades más populares entre los habitantes mexicanos y con el mayor valor tanto en el mercado nacional como internacional. La regeneración de plantas *in vitro* a partir del cultivo de células, tejidos y órganos proporciona un sistema alternativo para la propagación, fitomejoramiento, y el desarrollo de nuevos genotipos. Diversos estudios de regeneración a partir de diferentes tipos de explantes, confirman que el chile, como especie, es una planta altamente recalcitrante y estrechamente dependiente del genotipo en términos de regeneración y transformación *in vitro*, lo que hace difícil la aplicación de tecnologías de ADN recombinante para el mejoramiento genético. El objetivo de este proyecto es optimizar y simplificar el método para la regeneración y transformación de chile 'Jalapeño' utilizando la mínima cantidad de fitohormonas. El proceso consiste en cuatro etapas: primero se toman explantes de hipocotilo, epicotilo y de las puntas apicales de plántulas de 15 días de edad, siguiendo por la de formación de brotes, la elongación del tallo, y finalmente la regeneración de raíz. Se utilizaron diferentes concentraciones y mezclas de BAP, AIA, AIB, y TDZ para determinar la concentración óptima para la reconstrucción de la planta completa. El efecto del tipo de explante, la edad, y orientación también fue estudiado. Mediante esta metodología se lograron obtener plantas completamente regeneradas de 'Jalapeño'. Con este protocolo se pretende estudiar el posible uso de un nuevo marcador de selección para la transformación de plantas mediada por *Agrobacterium*, y el con el fin de diseñar fenotipos con mayor cantidad de licopeno.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, cultivo de tejidos, regeneración *in vitro*, transformación de plantas, chile

Optimization for *in vitro* regeneration and transformation protocol for 'Jalapeño' pepper (*Capsicum annuum* var. L)

Chili pepper (*Capsicum annuum*) is among the most economically important crops worldwide. Mexico is considered as one of the most important regions for domestication of chili peppers, where it is highly cultivated and consumed as part of the daily diet of the population since pre-Columbian times. The 'Jalapeño' cultivar (*C. annuum* var. L) is one of the most popular among the Mexican residents and with the higher value either in the national or international market. *In vitro* plant regeneration from cells, tissues and organ cultures provides an alternative system for plant propagation, breeding, and development of novel genotypes. Many studies on plant regeneration from different explant types confirm that pepper is a recalcitrant and highly genotype dependent species plant in terms of *in vitro* regeneration and genetic transformation, which makes it difficult to apply recombinant DNA technologies aimed at genetic improvement. The objective of this project is to optimize and simplify the method for regeneration of 'Jalapeño' pepper using the minimum amount of phytohormones. The process is divided in four stages starting seed germination followed by shoot formation, elongation, and root regeneration from hypocotyl, epicotyl, and shoot tip explants excised from 15 days old seedlings. Different concentrations and mixtures of BAP, IAA, IBA, and TDZ was used to determine the peak concentration for shoot and root regeneration. The effect of explant type, age, and orientation was also studied. Through this methodological approach we successfully obtained fully regenerated Jalapeño plants; In addition, with this protocol it is expected to study the potential use a novel selectable marker for *Agrobacterium* mediated plant transformation, and the possible development of improved phenotypes with greater lycopene production.

Keywords: *Capsicum annum*; plant regeneration; tissue culture; plant transformation; chili pepper

T1.13 Establecimiento *in vitro* de meristemos de *Colocacia esculenta* L. Shoot cultivar 'INIVIT MC 2012'

Arletys Santos Pino*, Jorge López Torres, Milagros Basail Pérez, Yenisey Gutiérrez Sánchez, Aymé Rayas Cabrera, Víctor Medero Vega, Dayana Rodríguez González, Daniel Rodríguez Pérez, Yoel Beovides García, Damicela Reinaldo Álvarez, Maricel Bauta Toledo

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apdo. 6, Santo Domingo, Villa Clara. Cuba. *organog.biotec@inivit.cu

Entre los principales problemas para el establecimiento *in vitro* de la malanga se encuentra la contaminación causada por bacterias, debido a que las plantas madres generalmente vienen infectadas desde el campo con estos patógenos, lo cual dificulta la introducción *in vitro* de este cultivo. El empleo de los meristemos como explante inicial, aumenta la eficiencia en el establecimiento *in vitro* logrando disminuir las pérdidas por contaminación, pero se necesita estudiar el balance entre auxinas y citoquininas en el medio de cultivo. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la concentración de 6-Bencilaminopurina y Acido Indolacético y la agitación orbital en el establecimiento *in vitro* de malanga 'INIVIT MC 2012' (*Colocasia esculenta* Shoot). Con el empleo del medio de cultivo constituido por el 80 % de las sales y vitaminas MS; 30 g l⁻¹ de sacarosa; 0.1 g l⁻¹ de miolinositol, con 0.1 mg l⁻¹ de 6-BAP y 0.05 mg l⁻¹ de AIA y el empleo del agitador orbital se logró la mayor calidad de los explantes con las características morfológicas adecuadas para pasar a la fase de multiplicación a los 28 días de cultivo.

Palabras clave: AIA, agitador orbital, malanga, propagación, 6-BAP

Establishment of *in vitro* meristems *Colocasia esculenta* L. Schott cultivar 'INIVIT MC 2012'

Among the main problems for the *in vitro* establishment of dasheen contamination is caused by bacterial, because the mother plants usually come from the field infected with these pathogens, which makes the *in vitro* introduction of this crop. The use of meristems as initial explant increase efficiency in achieving the *in vitro* establishment reduce losses caused by contamination, but needs to study the balance between auxins and cytokinins in the culture medium. The objective of this work was to study the effect of the 6-Bencylaminepurine and Indolacetic acid concentration and orbital agitation in the *in vitro*

establishment of dasheen 'INIVIT MC 2012' (*Colocasia esculenta* Shoot). By using the culture medium consisting of 80 % of MS salts and vitamins; 30 g l⁻¹ sucrose; 0.1 g l⁻¹ of myo-inositol, with 0.1 mg l⁻¹ of 6-BAP and 0.05 mg l⁻¹ of AIA and the use of the highest quality orbital shaker explants was achieved with the features morphological adequate to move to the multiplication phase at 28 days of culture.

Keywords: AIA, orbital shaker, dasheen, propagation, 6-BAP

T1.14 Caracterización molecular de secuencias endógenas infecciosas de *Banana streak virus* (eBSVs) en cultivares interespecíficos e híbridos de bananos y plátanos cultivados en Cuba

Elisa Javer-Higginson^{1*}, José E. González-Ramírez², Pierre-Yves Teycheney³

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 # 514 entre 5ta B y 5ta F, Municipio Playa, CP 11 600, La Habana, Cuba. *ejaver@inisav.cu

²Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales, INIVIT. Apdo. 6, Santo Domingo. CP 53 000, Villa Clara, Cuba.

³CIRAD-Bios, UMR AGAP, Station de Neufchâteau, Sainte-Marie, 97 130 Capesterre Belle-Eau, Guadeloupe, France.

Los bananos de tipo postre y los de cocción, incluyendo los plátanos, se originan de dos progenitores: *Musa acuminata* (AA) y *Musa balbisiana* (BB). El genoma de este último alberga formas alélicas de secuencias endógenas de *Banana streak virus* (eBSVs) pertenecientes a las especies *Banana streak OL virus* (eBSOLV), *Banana streak GF virus* (eBSGFV) and *Banana streak IM virus* (eBSIMV). La expresión de los alelos infecciosos de las eBSVs en los cultivares interespecíficos de banano de tipo AAB y AAAB, se dispara por la acción de factores de estrés biótico y abiótico, que incluyen el cultivo de tejidos y los cruzamientos interespecíficos, y provocan infecciones espontáneas con las especies de BSV relacionadas, con potencialidad para producir brotes infecciosos. Por tanto, las secuencias endógenas de BSV son actualmente el principal obstáculo para el mejoramiento de banano, el intercambio de germoplasma y el cultivo de

híbridos interespecíficos, aunque el riesgo de diseminación de BSV a través del cultivo de estos híbridos no ha sido evaluado. La caracterización molecular de los alelos de las eBSVs en híbridos que albergan el genoma *Musa balbisiana* es una herramienta útil para la estimación de este riesgo. En este trabajo, se realizó esta caracterización en varios cultivares interespecíficos de bananos y plátanos y accesiones conservadas en colecciones de germoplasma o que se cultivan en Cuba. Los resultados mostraron que todos los genotipos analizados albergan el alelo infeccioso GF7 excepto 'Manzano INIVIT (AAB)'. Varios de ellos presentan perfiles modificados para la secuencia eBSOLV. Los resultados mostraron igualmente que los híbridos FHIA 01, 18, 20, 21 y el cultivar 'Manzano INIVIT (AAB)' no tienen la secuencia eBSIMV. Estos estudios determinaron que la mayoría de los cultivares de bananos e híbridos interespecíficos cultivados en Cuba albergan alelos de al menos dos de las tres especies de BSV BSOLV, BSIMV and BSGFV en el genoma *Musa balbisiana*.

Palabras clave: *Banana streak virus* (BSV); secuencias endógenas infecciosas de *Banana streak virus* (eBSVs); alelo; *Musa balbisiana*; híbridos interespecíficos

Molecular characterization of infectious endogenous *Banana streak virus* (eBSV) sequences in banana interspecific cultivars and hybrids grown in Cuba

Dessert and cooking type banana, including plantain, originate from two progenitors: *Musa acuminata* (AA) and *Musa balbisiana* (BB). The genome of the latter, hosts infectious allelic forms of endogenous *Banana streak virus* sequences (eBSVs) of viral species *Banana streak OL virus* (eBSOLV), *Banana streak GF virus* (eBSGFV) and *Banana streak IM virus* (eBSIMV). Expression of infectious eBSV alleles in AAB and AAAB interspecific banana cultivars is triggered by biotic and abiotic stresses including tissue culture and interspecific crosses, leading to spontaneous infections by the cognate viruses and has the potential to cause BSV outbreaks. Therefore infectious eBSVs are currently the main constraint for breeding, exchanging and cultivating banana interspecific hybrids, although the risk of spreading BSVs through the cultivation of such hybrids has not been assessed yet. The molecular characterization of eBSV alleles in interspecific hybrids harboring the *M. balbisiana* genome is instrumental for assessing this risk. Here, we

report on such molecular characterization in several banana and plantain interspecific cultivars and accessions conserved in germplasm collections and/or cultivated in Cuba. Our work showed that all analyzed genotypes harbor infectious allele GF7 except 'Manzano INIVIT'. Several of them displayed modified eBSOLV allelic patterns and hybrids FHIA 01, 18, 20, 21 and cultivar 'Manzano INIVIT (AAB)' are devoid of eBSIMV. Our study determined most cultivars and interspecific hybrids grown in Cuba harbor infectious alleles of at least two of the three BSV species BSOLV, BSIMV and BSGFV in the *Musa balbisiana* genome.

Keywords: *Banana streak virus* (BSV); endogenous *Banana streak virus* sequences (eBSVs); allele; *Musa balbisiana*; interspecific hybrids

T1.15 Inducción de brotes múltiples mediante organogénesis directa en tomate de árbol común (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.)

Paola Andrea Murillo-Gómez*, Rodrigo Hoyos Sánchez

Grupo de Biotecnología Vegetal, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59A N° 63-20, Bloque 19A, Laboratorio 308, Medellín, Colombia. *paamurillo@unal.edu.co, rhoyos@unal.edu.co.

El tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), familia Solanaceae, es originario de los andes suramericanos (Tropicos, 2015), tiene gran potencial económico por su contenido nutricional y carácter exótico. La inducción de organogénesis en éste, es una buena alternativa para propagarlo masivamente, libre de patógenos, y útil para procesos de transformación genética. En este trabajo se evaluó la inducción de organogénesis *in vitro* utilizando tres tipos de explantes, hoja, peciolo y semilla, variedad común. Para todos los explantes se utilizó medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962), con 6.5 g l⁻¹ de agar, 20 g l⁻¹ de sacarosa y las fitohormonas TDZ o BAP a concentraciones de 0.5-3 g l⁻¹, combinados o no con las auxinas AIA (0.02 g l⁻¹) y ANA (0.025 g l⁻¹). En el caso de hojas, se utilizaron segmentos jóvenes de 0.5 cm². Las semillas fueron sembradas en medio de cultivo con 2 g l⁻¹ de TDZ o 3 g l⁻¹ de BAP; se evaluó simultáneamente un proceso de escarificación (retiro de parte de la testa) usando las mismas hormonas. Del peciolo se utilizaron segmentos transversales de

aproximadamente 2 mm. El medio de cultivo empleado fue el MS con agar, sacarosa y las fitohormonas AG₃ a 0.025 g l⁻¹, ANA a 0.025 g l⁻¹, AIA a 0.02 g l⁻¹ y AIB a 0.05 g l⁻¹. Explantes de hoja resultaron mejor en la inducción de brotes (18.4 brotes/explante), en medio de cultivo MS con 0.5 g l⁻¹ de TDZ, su fácil manipulación y resistencia al daño es útil para llevar a cabo ensayos de transformación genética. La producción de brotes en semilla fue buena pero limitada por la germinación, el proceso de escarificación incrementó la germinación y organogénesis vs. semillas no escarificadas, el mejor promedio ocurrió en semillas escarificadas en 3 g l⁻¹ de BAP (4.27 brotes/explante). En peciolo la respuesta fue muy baja y solo se encontró respuesta en tratamientos con ANA y AIA, el mayor número se obtuvo en 2 g l⁻¹ de BAP con auxinas.

Palabras clave: Brotes, cultivo *in vitro*, organogénesis, tamarillo, tomate de árbol

Induction of multiple shoots by direct organogenesis in common tree tomato (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.)

Tree tomato (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), Solanaceae family, It's native to the South American Andes (Tropics, 2015), it has great economic potential for its nutritional content and exotic nature. Induction of organogenesis on this is a good alternative to massively propagate, free of pathogens, and useful for genetic transformation processes. In this work the induction of organogenesis *in vitro* using three types of explants, leaf, petiole and seed, common variety was evaluated. For all explants, MS medium (Murashige & Skoog *et al.*, 1962) was used, supplemented with 6.5 g l⁻¹ agar, 20 g l⁻¹ sucrose and phytohormones BAP or TDZ at concentrations of 0.5-3 mg l⁻¹, combined or not with the IAA (0.02 mg l⁻¹) and ANA (0.025 mg l⁻¹) auxins. For leaves, young segments of 0.5 cm² were used. The seeds were inoculated into medium with 2 mg l of TDZ or 3 mg l⁻¹ BAP; simultaneously it was evaluated a scarification process (removal of part of seed coat) using the same hormones. From petiole cross segments of around 2 mm were used. The growth medium consisted of MS with agar, sucrose and the phytohormones AG₃ to 0.025 mg l⁻¹, ANA at 0.025 mg l⁻¹, IAA to 0.02 mg l⁻¹ and IBA at 0.05 mg l⁻¹. The shoot induction on leaf explants were better on MS medium with 0.5 mg l⁻¹ TDZ (18.4 shoots/explant), they are easy handling, damage

resistance and useful for performing genetic transformation assays. Shoot production seed was good but limited by germination, the process scarification increased germination and organogénesis, vs. unscarified seeds, the best average occurred in scarified seeds in 3 mg l⁻¹ of BAP (4.27 shoots/explant). In petiole the response was very low and only it was found in treatments with NAA and IAA, the largest number was obtained on 2 mg l⁻¹ of BAP and auxins.

Keywords: *In vitro* culture, organogenesis, shoots, tamarillo, tree tomato

T1.16 Incidencia de contaminantes microbianos durante la micropropagación de la malanga (*Xanthosoma* spp. y *Colocasia esculenta* (L.) Schott.)

Yenisey Gutierrez Sánchez*, Yadenys Torres Nuñez, Ania Robaina Jiménez, Ayme Rayas Cabrera, Arletys Santos Pino, Milagros Basail Pérez, Jorge López Torres, Victor Medero Vega, Yoel Beovides García y Dayana Rodríguez

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apdo. 6, Santo Domingo, Villa Clara. *contam.biotech@inivit.cu

La contaminación microbiana en el cultivo *in vitro* de la malanga es uno de los principales problemas a resolver, se ha informado grandes pérdidas producidas principalmente por bacterias. El objetivo del trabajo fue estudiar la incidencia de contaminantes microbianos en dos cultivares de malanga ('INIVIT MX-2007' e 'INIVIT MC-2012'). Para esto se tomaron frascos de cultivos con plantas *in vitro* de malanga contaminados en dos etapas de la micropropagación (establecimiento y multiplicación), se contabilizaron los aislados y se determinó el porcentaje de contaminación por cultivar en cada subcultivo. Se aislaron en todos los casos los microorganismos contaminantes por el método de agotamiento por estrías, se caracterizaron morfológicamente y la respuesta al Test de Gram. Se comprobó una alta incidencia de contaminantes microbianos en los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' e 'INIVIT MC-2012', siendo las bacterias las que causaron mayores afectaciones en las fases de establecimiento y multiplicación. El clon de malanga *Colocasia* 'INIVIT MC-2012' alcanzó el mayor porcentaje de contaminación (92.9 %) en el cuarto subcultivo, no siendo de igual forma en el cultivar 'INIVIT MX-2007' (*Xanthosoma* spp.), donde el tercer

subcultivo fue el que mayor porcentaje de contaminación alcanzó (65.0 %). Presentaron idénticas características morfológicas y microscópicas los aislados 7₂₀, 7₂₃ y 7₂₇ en el cv. 'INIVIT MX-2007' y 12₂₁, 12₂₅, 12₂₈ y 12₂₉ en el cv. 'INIVIT MC-2012' en las fases de establecimiento y multiplicación. Estos resultados son importantes porque contribuyen a elevar la eficiencia de la propagación *in vitro* de las aráceas, lo que da la posibilidad de obtener semillas de alta calidad genética y fitosanitaria para introducir en la producción.

Palabras clave: bacterias, malanga, plantas *in vitro*

Incidence of microbial contaminants during micropropagation malanga (*Xanthosoma* spp. and *Colocasia esculenta* (L.) Schott.)

Microbial contamination in the *in vitro* culture of taro and dasheen is one of the main problems to be solved, reported heavy losses mainly caused by bacteria. The objective was to study the incidence of microbial contaminants in two cultivars of taro and dasheen ('INIVIT MX-2007' and 'INIVIT MC-2012'). To this culture flasks they were taken with contaminated *in vitro* micropropagation two stages (establishment and multiplication) the isolates were counted and the percentage of contamination was determined by culturing in each subculture. Contaminating microorganisms by the method of exhaustion grooves were isolated in all cases, morphological characterization and response to Gram Test. A high incidence of microbial contaminants are found in taro cultivars 'INIVIT MX-2007' and dasheen cv. 'INIVIT MC-2012', with the bacteria that caused the greatest damage in the phases of establishment and multiplication. *Colocasia* cv. 'INIVIT MC-2012' reached the highest percentage of pollution (92.9 %) in the fourth subculture, not being in the same way in the cultivar 'INIVIT MX-2007' (*Xanthosoma* spp.). Where the third subculture was the highest percentage of pollution reached (65.0 %). They showed identical morphological and microscopic features the isolated 7₂₀, 7₂₃ and 7₂₇ in the cv. 'INIVIT MX-2007' and 12₂₁, 12₂₅, 12₂₈ and 12₂₉ in the cv. 'INIVIT MC-2012' at the stages of establishment and multiplication. These results are important because they help to increase the efficiency of *in vitro* propagation of araceae which gives the possibility to obtain high-quality seeds and plant genetics to enter into production.

Keywords: bacteria, *in vitro* plants, taro

T1.17 Producción de minitubérculos de ñame (*Dioscorea rotundata* Poir) cv. 'Blanco de Guinea' a partir de plantas obtenidas *in vitro* y su respuesta en campo

Daniel Rodríguez Pérez^{1*}, Víctor Medero Vega¹, Rafael G. Kosky², Yoel Beovides García¹, Aymé Rayas Cabrera¹, Arletys Santos Pino¹, Milagros Basail Pérez, Diosdada Gálvez Guerra¹, Dayana González Rodríguez¹, Yenisey Gutierrez Sánchez¹

¹Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo CP. 53 000, Villa Clara, Cuba. *sit.biotec@inivit.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830.

Existen protocolos para la propagación *in vitro* del ñame 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata* Poir.), sin embargo, la supervivencia en campo de las plantas obtenidas *in vitro* y la producción de minitubérculos como material vegetal de plantación, son problemáticas pendientes de solución. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la producción de minitubérculos del cultivar 'Blanco de Guinea' en cámaras de umbráculo y su respuesta en condiciones de campo, para la producción de 'semilla'. Se evaluó el efecto de cuatro distancias de plantación entre plantas *in vitro* previamente aclimatizadas sobre la producción de minitubérculos. Los minitubérculos se clasificaron según su masa fresca (g) en cinco categorías y se evaluó su respuesta agronómica en campo para la producción de 'semilla'. Se estudió la influencia de la cantidad de minitubérculos por montículos (uno, dos, tres y cuatro) con una masa fresca superior a 16.0 g, sobre la producción de 'semilla' en campo. Con la distancia de plantación de 0.10 x 0.10 m se logró el mayor número de minitubérculos por metro cuadrado (248) y con una masa fresca superior a 26.0 g, los cuales mostraron las mejores respuestas en campo en cuanto a brotación, supervivencia y masa fresca de los tubérculos producidos. Cuando se plantaron tres minitubérculos por montículo se obtuvo la mayor cantidad de tubérculos y con un mayor peso total. La metodología desarrollada permitió la obtención de material de plantación de calidad, lo cual contribuye a complementar el programa de

producción de 'semilla' del ñame 'Blanco de Guinea' y al desarrollo del cultivo.

Palabras clave: minitubérculos, ñame, semilla

Production of yam minitubers (*Dioscorea rotundata* Poir) cv. Blanco de Guinea' from *in vitro* plants and field response

There are protocols for *in vitro* propagation of yams 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata* Poir.), however, field survival of the plants obtained *in vitro* and production of minitubers as planting material, are outstanding problems of solution. The objective of this research are to evaluate the production of minitubers in cv. 'Blanco de Guinea' greenhouse and their response under field conditions for the production of 'seed'. The effect of four row spacings between *in vitro* plants previously acclimatized for minituber production was evaluated. Minitubers were classified by fresh mass (g) in five categories and their agronomic response field for the production of 'seed' was evaluated. The influence of the amount of minitubers by piles (one, two, three or four) with a fresh mass exceeding 16.0 g, on the production of 'seed' field is studied. The planting distance of 0.10 x 0.10 m the highest number of minitubers was achieved per square meter (248) and with a fresh mass exceeding 26.0 g, which showed the best responses in terms of field sprouting, survival and fresh weight of tubers produced. When three minitubers were planted per hill as many tubers were obtained and a higher total weight. The developed methodology allowed obtaining planting material quality, which contributes to supplement the program's production of 'seed' Yam 'Blanco de Guinea' and crop development.

Keywords: minitubers, seed, yam

T1.18 Influencia del medio de cultivo para la propagación *in vitro* de los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' (*Xanthosoma* spp.) y su generalización en las Biofábricas

Milagros Basail Pérez *, Victor Medero Vega, Ania Robaina Jiménez, Yadenys Torres Núñez, Jorge López Torres, Arletys Santos Pino, Aymé Rayas Cabrera, Yoel Beovidez García, Dayana Rodríguez Pérez, Yenisey Gutiérrez Sánchez

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo CP. 53 000, Villa Clara, Cuba. *sit.biotech@inivit.cu

El género de malanga *Xanthosoma* spp. es el de mayor importancia para la población con relación a otras aráceas comestibles. El incremento de los rendimientos en este cultivo depende de la aplicación de las técnicas biotecnológicas, tanto para la obtención de nuevos genotipos como para el saneamiento a patógenos y multiplicación *in vitro*. La producción del material de plantación por métodos biotecnológicos puede contribuir a cumplir con la demanda por lo que se definió como objetivo determinar la concentración de los reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) para la multiplicación de los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8', para así incrementar el coeficiente de multiplicación y obtener explantes con alta calidad para así contribuir a la generalización de este clon en las Biofábricas. En ambos cultivares se utilizó como control 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP (6-Bencilaminopurina) y 1.0 mg l⁻¹ de AIA (Ácido Indolacético). Cuando se realizaron las evaluaciones a los 15 días de cultivo se determinó que al utilizar el medio de cultivo con 3.0 mg l⁻¹ de 6-BAP y 1.0 mg l⁻¹ de AIA permitió incrementar el coeficiente de multiplicación de 1.02 a 2.51 en el cultivar de malanga 'INIVIT MX-2007', mientras que con 3.0 mg l⁻¹ de 6-BAP y 0.5 mg l⁻¹ de AIA permitió incrementar el coeficiente de multiplicación de 1.25 a 2.70 en el cultivar 'México-8' logrando una mayor introducción de explantes en las Biofábricas con mejor calidad.

Palabras clave: ácido Indolacético, coeficiente de multiplicación, explantes, reguladores del crecimiento

Influence of culture medium for the spread of farming *in vitro* malanga 'INIVIT MX-2007' y 'Mexico-8' (*Xanthosoma* spp.) and widespread in biofactories

Gender taro *Xanthosoma* spp. it is the most important for the population relative to other edible Araceae. The increase in yields in this crop depends on the application of biotechnological techniques, both for obtaining new genotypes to pathogens and sanitation *in vitro* multiplication. Production of planting material for biotechnological methods can help to meet the demand for what was defined as objective to determine the concentration of growth regulators (6-BAP and IAA) for multiplying cultivars malanga 'INIVIT MX 2007' and 'Mexico-8' in order to increase the

multiplication factor and get explants with high quality to contribute to the spread of this clone in Biofactories. In both cultivars I was used as a control 2.0 mg l⁻¹ of 6-BAP (6-benzylaminopurine) and 1.0 mg l⁻¹ indoleacetic acid (IAA). When evaluations after 15 days of culture were performed was determined that by using the culture medium with 3.0 mg l⁻¹ of 6-BAP and 1.0 mg l⁻¹ IAA possible to increase the multiplication coefficient from 1.02 to 2.51 in malanga cultivar 'INIVIT MX-2007', while with 3.0 mg l⁻¹ of 6-BAP and 0.5 mg l⁻¹ IAA allowed to increase the coefficient of multiplication of 1.25 to 2.70 in the cultivar 'Mexico-8' achieving greater introduction of explants in Biofactories with better quality.

Keywords: indoleacetic acid, coefficient multiplication, explants, growth regulators

T1.19 Estrategias para reducir la necrosis apical en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de Pistacho

Marcos Daquinta*, Iris Capote, Mariela Cid, Danilo Pina, Maritza Escalona

Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km 9. CP 69 450. Cuba. *mdaquinta1962@gmail.com

El pistacho (*Pistacia* sp.) es uno de los frutales menos explotados, entre las principales causas está el elevado costo del material vegetal por las dificultades de propagación de la especie. La propagación *in vitro* ofrece un gran potencial para la industria de esta especie por la multiplicación a gran escala de clones seleccionados. A partir de brotes jóvenes de plantas de esta especie mantenidas en casas de cultivo, se procedió a su desinfección con hipoclorito de sodio al 1 % durante diferentes tiempos. Las yemas apicales y axilares se establecieron en el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado y enriquecido con 1.07 mg l⁻¹ de Metatopolina. Se evaluaron diferentes concentraciones de Nanopartículas de plata y Phloroglucinol (PG) en los medios de cultivo durante dos subcultivos de multiplicación y su influencia posterior en el enraizamiento, así como tres condiciones de iluminación en la multiplicación y el enraizamiento del pistacho. El empleo de las Nanopartículas de plata redujeron la necrosis apical a 5 % y 2.9 %, con respecto al 28 % que presentó el control, pero también redujeron el coeficiente de multiplicación,

así como el enraizamiento en las plantas multiplicadas con la presencia de este producto. Con el empleo del Phloroglucinol se lograron los valores más bajo de necrosis apical, llegando a su reducción total en el segundo subcultivo, sin afectar las demás variables evaluadas. En la fase de enraizamiento se presentaron valores altos en los tratamientos donde se emplearon plantas provenientes del medio de cultivo DKW enriquecido con PG. En condiciones de luz natural (22.3-31.0 micromol.m⁻².s⁻¹) se logró el mejor comportamiento de la multiplicación y el enraizamiento del pistacho, presentando más del 80 % de plantas enraizadas y más del 70 % apta para su comercialización.

Palabras clave: forestales, medios de cultivo, nueces, propagación *in vitro*

Strategies to reduce the apical necrosis *in vitro* multiplication and rooting of Pistachio

The pistachio (*Pistacia* sp.) is one of the least exploited fruit; among the main causes is the high cost of plant material by the difficulties of propagation of the species. The propagation *in vitro* offers great potential for the industry of this species by multiplication scale of selected clones. From young shoots of plants of this species kept in growing houses, proceeded to disinfection with sodium hypochlorite 1 % for different times. The apical and axillary buds to established in the culture medium Murashige and Skoog (1962) modified and supplemented with 1.07 mg l⁻¹ Metatopolina. Different concentrations of silver nanoparticles and Phloroglucinol in the culture media for two passages multiplication and subsequent influence on rooting were evaluated. Three light conditions on multiplication and rooting were evaluated pistachio. The use of silver nanoparticles apical necrosis reduced to 5 % and 2.9 % compared to 28 % who presented the control, but also reduced the multiplication coefficient and rooting plants propagated in the presence of this product. By using the Phloroglucinol the lowest values of apical necrosis, reaching its total reduction in the second subculture, without affecting the other variables assessed were achieved. In the rooting phase values, they were higher in the treatments where plants from the culture medium enriched with PG DKW were used. In daylight conditions (22.3-31.0 micromol.m⁻².s⁻¹) the best performance of multiplication and rooting pistachio, presenting more than 80 % of rooted plants and more than 70 % was achieved suitable for marketing

Keywords: forest, culture medium, nuts, *in vitro* propagation

T1.20 Consideraciones generales sobre la Plataforma Biotecnológica de laboratorios de propagación masiva de plantas *in vitro* en Argentina

José Cabral^{1*}, Miguel Suarez Castellá², Verónica Rodríguez³

¹Gerencia Gral. de BIOMISA, Posadas, Provincia de Misiones. *gerencia@biofabrica.com.ar

²Profesor Titular. Facultad de Ingeniería Mecánica e Industrial. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

³Especialista de BIOMISA, Posada Provincia de Misiones, Argentina.

Los principales cultivos de la producción agroindustrial y alimentaria en las economías regionales de Argentina, son reproducidos por multiplicación asexual y la técnica del cultivo *in vitro* asegura sanidad vegetal, uniformidad en la genética seleccionada y rejuvenecimiento, aportando productividad a los diferentes cultivos, siendo la forma de disponibilidad más rápida que tienen los productores de nueva genética o plantas saneadas para su cultivo, además del rescate de germoplasma de interés alimenticio y medicinal. La idea de generar una plataforma biotecnológica para los laboratorios de propagación masiva de plantas en Argentina, implica un trabajo en red pero en alianzas que signifiquen más que el intercambio de información o experiencias, sino la posibilidad de accionar de manera conjunta ante la necesidad de una genética determinada bajo una demanda real, el establecimiento de bancos de germoplasma y planes de mejoramiento genético, el desarrollo o ajuste de protocolos y la producción de determinados cultivos sin que se dupliquen o solapen ofertas entre laboratorios, así como la mejora de costos y de precios. El presente trabajo tiene por objetivo mostrar las bases para el funcionamiento de la plataforma biotecnológica de laboratorios de propagación masiva de plantas *in vitro* en Argentina, integrantes, diseño de la plataforma propuesta e impactos potenciales tanto para las entidades productivas biotecnológicas, centros de investigación y universidades y en especial para los productores, así como las repercusiones positivas para el desarrollo

municipal, provincial, regional y para el país, constituyendo de hecho una referencia a tener en cuenta por países de la región.

Palabras clave: desarrollo local y regional, propagación masiva de plantas

T1.21 Nuevo papel de los compuestos fenilpropanoide durante la micropropagación de la caña de azúcar en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT)

Aydiloide Bernal Villegas^{*1}, Ariel D. Arencibia Rodríguez², Liu Yang³, Jorge L. Montes de Oca Suárez¹, Pablo Machado Armas¹, Mayra Jiménez Vázquez¹, Zenaida Occeguera Águila¹, Ramiro Castillo León¹

¹Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Centro – Vila Clara (ETICA). Autopista Nacional km 246, Ranchuelo, Villa Clara. Cuba. aydiloide@inicavc.azcuba.cu

²Universidad Católica del Mule, Chile.

³Crop Genetic Improvement and Biotechnology Lab, Guangxi Academic of Agricultural Sciences, 174 East Daxue Road, Nanning 530007, PR China.

El estudio se desarrolló a partir de observaciones realizadas durante la propagación *in vitro* de explantes de caña de azúcar en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT), estos producían metabolitos fenólicos que al contrario de la propagación convencional, donde estos compuestos se consideran indeseables, se obtuvieron plantas *in vitro* con mayor vigor y más velocidad de crecimiento. La caracterización genómica de las plantas, se logró suprimiendo genes importantes de fenilpropanoide, como resultado de una nueva función de los metabolitos fenólicos. Genes relacionados con el metabolismo y desarrollo celular, defensa de las plantas, responsables del metil jasmónico, etileno, reacciones oxidativas y la ruta de las auxinas, entre otros, fueron encontrados para ser inducido en plantas de caña de azúcar propagadas en los BIT con metabolitos fenólicos. Como resultado se obtuvieron plantas *in vitro* mejor adaptadas a las condiciones naturales, aumentando el número de raíces funcionales y mayor velocidad de crecimiento.

Palabras clave: metabolitos fenólicos, propagación *in vitro*

New role of phenylpropanoid compounds during micropropagation of sugarcane in Temporary Immersion Bioreactors (TIB)

The study was developed from observations made during the *in vitro* propagation of explants of sugarcane in Temporary Immersion Bioreactors (TIB), they produced phenolic metabolites that contrary to conventional breeding, where these compounds are considered undesirable, were obtained plants *in vitro* with greater vigor and growth rate. Genomic characterization of plants was achieved phenylpropanoid suppressing genes important as a result of a new function of phenolic metabolites. Genes related to metabolism and development plant defenses, phenylpropanoids, methyl jasmonate response, ethylene, oxidative burst and, auxins pathways, among others were found to be induced in sugarcane plants propagating in TIB with phenolic metabolites. As a result plantlets were obtained better adapted to natural conditions, an increased number of functional roots, and a high growth rate.

Keywords: phenolic metabolites, *in vitro* propagation

T1.22 Efecto de mezclas de sustratos en la fase de conversión de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Caturra rojo' obtenidas por embriogénesis somática

Alina Capote¹, Raúl Barbon^{1*}, Hien Nguyen Thi², Manuel de Fera¹, Anabel Pérez¹, Leonardo Rivero¹, Michel Leiva², Ortelio Hurtado¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830. *raulb@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830.

El desarrollo de la embriogénesis somática de café (*Coffea* spp.) en medios de cultivo líquido es una alternativa viable para la propagación de esta especie pero se requiere incrementar los porcentajes de conversión en plantas. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de

sustratos, elaborados con mezclas de humus de lombriz y zeolita, en la fase de conversión de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Caturra rojo' obtenidas por la germinación de los embriones somáticos en Sistemas de Inmersión Temporal tipo RITA[®]. Las plantas se seleccionaron de acuerdo a su desarrollo morfológico con las siguientes características: tres pares de hoja verdaderas, longitud del tallo de 2.0 – 3.0 cm y con desarrollo radicular. Se conformaron cuatro tratamientos (85 % humus de lombriz-15 % zeolita, 75 % humus de lombriz-25 % zeolita, 65 % humus de lombriz-35 % zeolita, 50 % humus de lombriz-50 % zeolita) y se evaluó: la altura de las plantas, el número de pares de hojas, longitud de la raíz principal, masa fresca y masa seca. Se alcanzó una alta supervivencia de las plantas procedentes de embriogénesis somática en los diferentes tratamientos, superior al 89.0 %. En los sustratos con mayor contenido de humus de lombriz se obtuvieron los mayores valores para las variables morfológicas evaluadas. El análisis de los índices fisiológicos nos confirma el efecto de la combinación de sustratos con mayor contenido de humos de lombriz, donde se obtuvieron los mejores índices fisiológicos de tasa de asimilación neta, crecimiento absoluto y relativo exceptuando la razón de área foliar, determinándose diferencias significativas con las otras combinaciones de sustrato.

Palabras clave: adaptación *ex vitro*, embrión somático, humus de lombriz, zeolita

Effect of substrates mixtures on conversion phase of *Coffea arabica* L. cv. 'Caturra rojo' plants obtained by somatic embryogenesis

The development of somatic embryogenesis of coffee (*Coffea* spp.) in liquid culture medium is a viable alternative for the propagation of this specie, but high conversion rates are required. The aim of this paper was to determine the effect of substrates elaborated with a mixture of natural zeolite and vermicompost on conversion phase of *Coffea arabica* L. cv. 'Caturra rojo' plants obtained by germination of somatic embryos in temporary immersion systems RITA[®] type. The plants were selected according to their morphological development with the following characteristics: three pairs of true leaf, stem length of 2.0 - 3.0 cm and root development. Four treatments were used (85 % vermicompost -15 % zeolite, 75 % vermicompost -25 % zeolite, 65 % vermicompost -35 % zeolite, 50 % vermicompost -50 % zeolite). It was evaluated the plant height, pair leaf number,

principal root length, fresh weight and dry weight. It was achieved high survival of plants from somatic embryogenesis in the different treatments, over 89.0 %. The mixtures with higher content of vermicompost allowed better results in all the variables evaluated. The analysis of physiological indices confirms the effect of the combination of substrates with higher content of vermicompost where the best physiological indices net assimilation rate, absolute growth and relative were obtained except the leaf area ratio, determining significant differences with other combinations of substrate.

Keywords: *ex vitro* adaptation, somatic embryo, vermicompost, zeolite

T1.23 Empleo del sistema RITA® y el floriglucinol® en la germinación completa de embriones somáticos de papaya (*Carica papaya* L. var. 'Maradol Roja')

Laisyn Posada Pérez^{1*}, Yenny Padrón Montesinos¹, Diosdada Gálvez Guerra², Raúl Barbón Rodríguez¹, Rafael Gómez Kosky¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. laisyn@ibp.co.cu

²Instituto Nacional de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT) Carretera Central Km 248 Santo Domingo, Villa Clara, Cuba

El presente trabajo tuvo como objetivo lograr la germinación completa de los embriones somáticos de papaya (*Carica papaya* L. var. 'Maradol Roja') en medios de cultivo líquido y semisólido a partir de embriones cigóticos inmaduros como una vía alternativa para la propagación masiva y el mejoramiento genético de esta especie. Se evaluó el efecto de las condiciones de cultivo en los RITA® sobre la germinación de los embriones somáticos y el efecto del floriglucinol® en la germinación de los embriones somáticos en medio de cultivo semisólido. Los resultados obtenidos con el empleo del SIT tipo RITA® y con la concentración de 0.02 µM de 6 BAP más 2.90 µM de ácido giberélico tuvo de manera general una respuesta superior en todas las variables evaluadas con valores iguales o superiores con el resto de los tratamientos, además de una densidad de inóculo inicial de 200 mgMF de embriones somáticos. También fue posible con el empleo del

floriglucinol® a la concentración de 475.8 µM en medio de cultivo semisólido alcanzar la germinación completa de embriones somáticos de papaya con una baja formación de callo basal. Por primera vez, a nivel nacional e internacional, hasta el momento se informa el desarrollo de dos estrategias biotecnológicas (RITA® en medio de cultivo líquido y floriglucinol® en medio de cultivo semisólido) para la germinación de plantas completas a partir de embriones somáticos de papaya var. 'Maradol Roja', lo cual garantiza solucionar el problema de la formación del callo basal y de la ausencia de la radícula en los embriones somáticos de este cultivo.

Palabras claves: embriogénesis somática, floriglucinol, papaya, SIT

Using the RITA® system and phloroglucinol® in full germination of papaya (*Carica papaya* L. var. 'Maradol Roja') somatic embryos

This work aims to achieve complete germination of somatic embryos of papaya (*Carica papaya* L. var. 'Maradol Roja') in liquid and semi-solid media culture from immature zygotic embryos as an alternative way for mass propagation and genetic improvement of this species. The effect of culture conditions on RITA® on germination of somatic embryos and the effect of phloroglucinol® germination of somatic embryos in semisolid medium was evaluated. The results obtained with the use of SIT RITA® type and concentration of 0.02 µM 6 BAP and 2.90 µM gibberellic acid was generally superior response on all evaluated variables with equal or higher values with other treatments, plus an initial inoculum density of 200 mgFM of somatic embryos. It was also possible with the use of phloroglucinol concentration of 475.8 µM in semisolid medium reach full germination of somatic embryos papaya with low basal callus formation too. For the first time, nationally and internationally, so far the development of two biotechnological strategies (RITA® in liquid culture and phloroglucinol® into semi-solid medium) for germination of complete plants are reported from somatic embryos of papaya var. 'Maradol Roja', ensuring solve the problem of basal callus formation and the radicle absence in somatic embryos from this crop.

Keyword: somatic embryogenesis, phloroglucinol, papaya, TIS

T1.24 Producción de minitubérculos de cuatro variedades cubanas de papa en casa de cultivo con sustrato de zeolita

Manuel de Feria*, Leyanes García-Águila, Ortelio Hurtado, Michel Chamizo, Yelenys Alvarado-Capó, Mariana La O, Mayelín Rodríguez, Marta Pérez, Alexis Rodríguez, Blanca Pérez, Zoe Sarria, Osvaldo Fernández

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Cuba CP 54 830. *mdeferia@ibp.co.cu

En Cuba cada año se importan miles de toneladas de semilla de papa y el país invierte varios millones de dólares, sin que esto garantice la calidad fitosanitaria, ni elevados rendimientos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar y seleccionar variedades nacionales de papa mejor adaptadas a las condiciones climáticas del país como una alternativa a la problemática antes planteada. Las plantas propagadas *in vitro* de las variedades 'Grettel', 'Yuya', 'Ibis' y 'Marinca' fueron plantadas en una casa de cultivo que tenía como sustrato Zeolita. La plantación recibió las mismas atenciones culturales que las aplicadas normalmente en estas condiciones de cultivo para la obtención de semilla con categoría original en el programa nacional. La cosecha se realizó a los 75 días de cultivo y se evaluó para cada planta, el número de minitubérculos totales, el número de minitubérculos con un calibre superior a 15 mm y el peso fresco de cada minitubérculo. Respecto al número total de minitubérculos por planta, los mejores resultados se lograron con las variedades 'Yuya' e 'Ibis' con 3.8 y 3.5 respectivamente. Sin embargo, con respecto al número de minitubérculos aprovechables como semilla original (> 15 mm), solamente la variedad 'Yuya' mostró resultados similares al tratamiento control. La variedad 'Yuya' promedió 3.2 minitubérculos aprovechables como semilla original, mientras que, la variedad 'Romano' (control) promedió 3.1 minitubérculos por planta. Entre todas las variedades evaluadas, el mayor porcentaje de minitubérculos aprovechables fue alcanzado precisamente por la variedad 'Yuya' con 82.3 %. Los resultados de esta primera evaluación mostraron que las variedades 'Yuya' e 'Ibis' son genotipos que por su respuesta deberán ser evaluadas en los próximos años según establece el esquema nacional de producción de semilla de papa del Ministerio de la Agricultura.

Palabras clave: semilla agámica, *Solanum tuberosum*, tubérculos

Production of minitubers of four cuban varieties potato in culture house with substrate of zeolite

In Cuba every year thousands of tonnes of potatoes seed are imported and the country invests several million dollars, without guarantee phytosanitary quality and high yields. This study had as aims to evaluate and select national varieties of potato best adapted to climatic conditions of the country as an alternative to the above issues raised. Plants propagated *in vitro* of the varieties 'Grettel', 'Yuya', 'Ibis' and 'Marinca' were planted in a culture house had zeolite as substrate. The plantation received the same cultural attentions than normally applied in these culture conditions for obtaining seed with original category in the national program. The harvest took place to 75 culture days and evaluated for each plant, the total number of minitubers, the number of minitubers with a higher caliber of 15 mm and the fresh weight of each minituber. With relationship to the total number of minitubers per plant, best results were achieved with 'Yuya' and 'Ibis' varieties with 3.8 and 3.5 respectively. However, regarding the number of minitubers usable as original seed (> 15 mm), only 'Yuya' showed similar results to the control treatment. The variety 'Yuya' averaged 3.2 minitubers usable as original seed, while the 'Romano' variety (control) averaged 3.1 minitubers per plant. Among all the varieties tested, the highest percentage of usable minitubers was achieved precisely in the variety 'Yuya' with 82.3 %. The results of this first evaluation showed that 'Yuya' and 'Ibis' varieties are genotypes that for your reply should be evaluated in the coming years as established in the national scheme of seed potato production of the Ministry of Agriculture.

Keywords: agametic seed, *Solanum tuberosum*, tubers

T1.25 Efecto de los Fitoestimulantes FitoMas-E y Bayfolan® Forte en el desarrollo morfo-fisiológico de plantas obtenidas por embriogénesis somática de *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' en la adaptación *ex vitro*

Raúl Barbon^{1*}, Hien Nguyen Thi², Manuel de Feria¹, Alina Capote¹, Anabel Pérez¹, Leonardo Rivero¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830. *raulb@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830.

El café constituye un importante rubro exportable para la economía nacional y un producto insustituible en la canasta básica de los cubanos. Las plantas de cafeto son muy susceptibles a la deficiencia de elementos nutricionales como el nitrógeno y los microelementos. Para la corrección de estas deficiencias se ha venido utilizando la práctica de la fertilización foliar o fitoestimulantes. El objetivo de este experimento fue evaluar, durante la adaptación *ex vitro*, el efecto de los fitoestimulantes FitoMas-Ey Bayfolan® Forte (Bayer CropScience, Alemania) en las características morfo-fisiológicas de las plantas *in vitro* de *C. arabica* L. cv. 'Caturra rojo' a partir de la germinación de los embriones somáticos en Sistemas de Inmersión Temporal tipo RITA®. Las plantas se seleccionaron de acuerdo a su desarrollo morfológico con las siguientes características: tres pares de hojas verdaderas y una longitud del tallo de 2.0 – 3.0 cm. Se pudo determinar que hubo un efecto positivo en las plantas de *C. arabica* cv. 'Caturra rojo' tratadas con Bayfolan® Forte y FitoMas-E con respecto al control sin aplicación. En los tratamientos con Bayfolan® Forte y FitoMas-E se determinaron los mayores valores de altura de la planta, la longitud de raíz y números de hojas, no encontrándose diferencias significativas entre estos pero si con respecto a las plantas que no recibieron ningún tipo de aplicación (control) durante los 90 días de adaptación en la casa de cultivo. Los valores de supervivencia de las plantas cultivadas en casa de cultivo bajo los diferentes tratamientos y el control fueron de un 100 %. Se pudo observar un buen desarrollo morfológico de las plantas en todos los tratamientos. Sin embargo, en el tratamiento con Bayfolan® Forte se obtuvieron los mejores resultados morfofisiológicos en cuanto al área foliar, masa fresca total y masa seca total, presentando diferencias significativas con respecto al tratamiento con el fitoestimulante FitoMas-E y el control.

Palabras clave: cafeto, conversión, embrión somático, índices fisiológicos

Effect of phyto-stimulating of FitoMas-E and Bayfolan® Forte in the morpho-physiological development of plants obtained by somatic embryogenesis of *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' in the adaptation *ex vitro*

Coffee is an important export item for the national economy and an irreplaceable product in the food of Cubans. Coffee plants are very susceptible to deficiency of nutritional elements like nitrogen and microelements. To correct these deficiencies has been used practice or phytostimulants foliar fertilization. The objective of this experiment was to evaluate, during adaptation *ex vitro*, the effect of Fitomas-Ey Bayfolan® Forte phytostimulants (Bayer CropScience, Germany) in the morpho-physiological *in vitro* plants of *C. arabica* L. cv features. 'Red Caturra from germination of somatic embryos in temporary immersion systems RITA® type. Plants were selected according to their morphological development with the following characteristics: three pairs of true leaves and a stem length of 2.0 - 3.0 cm. It was determined that there was a positive effect on plants of *C. arabica* cv. 'Caturra rojo' treated Bayfolan® Forte and Fitomas-E with respect to the untreated control. In treatments Bayfolan® Fitomas-E Forte and the highest values of plant height were determined, root length and number of leaves, with no significant differences between these but with respect to the plants that did not receive any application (control) for 90 days to adapt to the growing house. Survival values of cultivated plants in the house of culture under different treatments and control were 100%. We observed a good morphological plant development in all treatments. However, treatment with the best morphophysiological Forte Bayfolan® results were obtained in terms of leaf area, fresh whole mass and total dry mass, presenting significant differences regarding treatment with phytostimulant Fitomas-E and control.

Keywords: *coffee* tree, conversion, somatic embryo, physiological indices

T1.26 Efecto de ECOMIC en casa de cultivo sobre plantas *in vitro* de *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' obtenidas a partir de embriones somáticos

Tatiana Pichardo, Mayra Acosta-Suárez, Mileidy Cruz-Martín, Eilyn Mena, Berkis Roque, Raúl Barbón, Alina Capote, Anabel Pérez, Leonardo Rivero, Yelenys Alvarado-Capó*

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *yelenys@ibp.co.cu

El empleo de micorrizas en el cultivo de café (*Coffea* spp.) en campo ha mostrado resultados alentadores. Teniendo en cuenta estos antecedentes este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del biofertilizante cubano ECOMIC sobre plantas *in vitro* de *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' obtenidas a partir de embriones somáticos germinados en medio de cultivo semisólido. El biofertilizante se mezcló con el sustrato compuesto por materia orgánica y zeolita (80:20) a razón de 1.25g, 2.5g y 5.0g por planta. Este se distribuyó en bandejas de polipropileno negras con alvéolos de 200 mm³ de capacidad cada uno. Se incluyó un control sin biofertilizante y en cada tratamiento se colocaron 28 plantas. Cada 15 días y hasta los 70 días de cultivo se midió la altura de las plantas, se cuantificó el número de pares de hojas por planta y se calculó el porcentaje de supervivencia. Se comprobó que el biofertilizante ECOMIC incrementó el crecimiento de las plantas cuando se adicionaron 5.0g por planta al sustrato. Estos resultados sientan las bases para el uso de micorrizas en la conversión de plantas obtenidas por embriogénesis somática.

Palabras clave: biofertilizante, conversión, embriogénesis, micorrizas

Effect of ECOMIC in greenhouse on *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' *in vitro* plants obtained from somatic embryos

The use of mycorrhizae in the coffee (*Coffea* spp.) cultured in the field has shown encouraging results. Given this background, this study aimed to determine the effect of Cuban biofertilizer ECOMIC on *in vitro* plants of *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' obtained from somatic embryos germinated in semisolid medium. The biofertilizer was mixed with the substrate composed of organic material and zeolite (80:20) at a rate of 1.25g, 2.5g and 5.0g per plant. It was distributed in black polypropylene trays with alveoli 200 mm³ capacity each. A control without biofertilizer was included and 28 plants were placed in each treatment. Every 15 days to 70 days of culture the plant height was measured, the number of pairs of leaves per plant was quantified and the percent survival was calculated. It was found that the biofertilizer ECOMIC increased plant growth when

added 5.0g per plant to substrate. These results provide the basis for the use of mycorrhizae in conversion of plants obtained by somatic embryogenesis.

Keywords: biofertilizer, conversion, embryogenesis, mycorrhizae

T1.27 Establecimiento *in vitro* del portainjertos híbrido Garfi x Nemared (Garnem) para durazno en los Valles Cruceños

Limberg Guevara Salguero¹, Giorjan Arnulfo Arancibia Padilla¹, Samuel Sala Limachi¹, Andy Aguilar Flores¹, Faride Tirado Banuz² y Rafael Gómez-Kosky³

¹Laboratorio de Biotecnología Agroforestal. Asociación "Bolivian Cactus", Cantón Pulquina Abajo, Carretera Vieja a Cochabamba km 256. Comarapa, Departamento Santa Cruz, Bolivia.

²ONG Green Cross Bolivia. Calle 3 este, lado de la Capilla "El Carmen" Zona Norte, "El Remanso". Santa Cruz de la Sierra, Departamento Santa Cruz, Bolivia.

³Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

El híbrido interespecífico entre almendro x durazno, Garfi x Nemared (*Prunus dulcis* (Mill) D.A.Webb x *Prunus persica* L. Batsch.) ha alcanzado gran importancia como portainjertos para durazno en Bolivia, pero la propagación por métodos tradicionales de este híbrido ha sido muy difícil. En el presente estudio el establecimiento *in vitro* de este híbrido fue evaluado empleando como explantes segmentos nodales de plantas madres creciendo bajo condiciones controlada de cultivo. Para la desinfección dos concentraciones de hipoclorito de sodio (0.5 y 0.75 %) y dos tiempos (10 y 12 min) fueron ensayados. El mayor porcentajes de establecimiento fue logrado empleando 0.75 % de NaClO durante 12 min, en un medios de cultivo MS libres de reguladores del crecimiento. Se alcanzó un 100 % de control de la oxidación de los fenoles con la combinación de plantas madres creciendo bajo 50 % de sombra, yemas jóvenes, el uso del antioxidante ácido cítrico a la concentración de 150 mg l⁻¹ al final del proceso de desinfección y en el medio de cultivo y posteriormente colocar los tubos de ensayos con

los segmentos nodales una semana en condiciones de oscuridad.

Palabras clave: Cultivo de tejidos, *Prunus*, híbrido interespecífico, portainjertos

***In vitro* establishment of hybrid rootstocks Garfi x Nemared (Garmen) for peach in the Valles Cruceños**

The interspecific hybrid between almond and peach, Garfield x Nemared (*Prunus dulcis* (Mill) DAWebb x *Prunus persica* L. Batsch.) has become very important as rootstocks for peach in Bolivia, but propagation by traditional methods of this hybrid has been very difficult. In the present study, the *in vitro* establishment of this hybrid was evaluated using nodal segments as explants mother plants growing under controlled culture conditions. For disinfection two concentrations of sodium hypochlorite (0.5 and 0.75 %) and time (10 and 12 min) were tested. The greatest percentage of establishment was achieved using 0.75 % NaClO for 12 min in an MS culture medium free of growth regulators. A 100 % control of the oxidation of phenols with the combination of mother plants growing under 50 % shade, young buds, the use of citric acid antioxidant to the concentration of 150 mg l⁻¹ at the end of the disinfection process and into the culture medium and then place the test tubes with the nodal segments one week in the dark.

Keywords: Tissue culture, *Prunus*, interspecific hybrid, rootstocks

T1.28 Establecimiento *in vitro* de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz

Jenny Núñez^{1*}, Manuel de Fera², Elisa Quiala², Paul Jines¹

¹Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Laboratorio de Cultivo de Tejidos. *jenny@ibp.co.cu; jenunez@epoch.edu.ec

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

El Guarango (*Caesalpinia spinosa*) es un árbol originario de los Andes en peligro de extinción en Ecuador, muy útil para los programas de

forestación y reforestación con gran importancia económica. Estudios de campo han permitido la selección de ocho genotipos a partir de los cuales se propone iniciar un programa de clonación empleando técnicas biotecnológicas, pues en todos los casos sus rendimientos superan los 40 kg de vainas por árbol con una elevada producción de taninos. El objetivo principal de este trabajo fue lograr el establecimiento *in vitro* de yemas axilares obtenidas de plantas donantes establecidas en casa de cultivo. Estas plantas donantes fueron revigorizadas de árboles adultos mediante injerto. Los tratamientos de desinfección estudiados combinaron el efecto de una solución de Hipoclorito de sodio al 3.0 % con 1.0 ml de Tween-80 con diferentes tiempos de exposición de los explantes a esta solución (5, 10, 20 min.). Cada yema se colocó por separado en un tubo de ensayo que contenía 10 ml de medio de cultivo en estado semisólido, el medio de cultivo estuvo compuesto por el 50 % de las sales MS complementado con 3.0 % de sacarosa. Se estudió además, el efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP (0.0, 0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹) en la respuesta de las yemas en esta fase del proceso. El mejor tratamiento para la desinfección de los explantes se logró al combinar 3.0 % de Hipoclorito de sodio y 10 minutos con un 95 % de explantes libres de contaminantes microbianos. Mientras que, el mayor porcentaje de explantes brotados (90 %) se logró en el medio de cultivo compuesto por el 50 % de las sales MS complementado con 0.25 mg l⁻¹ de 6-BAP.

Palabras clave: desinfección, especie leñosa, Guarango, propagación *in vitro*, 6-BAP

***In vitro* establishment of *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz**

The Guarango (*Caesalpinia spinosa*) is a tree native to the Andes. It is an endangered species in Ecuador and very useful for afforestation and reforestation programs with great economic importance. Field studies have allowed the selection of eight genotypes from which it is proposed to initiate a program of cloning using biotechnology techniques, as in all cases yields exceeding 40 kg of pods per tree with a high production of tannins. The aim of this study was to achieve the *in vitro* establishment of the axillary buds obtained from donor plants cultivated in greenhouse. These plants were reinvigorated by grafting from adult trees. During disinfection the effect of different exposure times of the explants (5, 10, 20 min.) to a sodium hypochlorite solution

(3.0 %) was studied. Each explants was placed separately in a test tube containing 10 ml of semi-solid culture medium, composed of 50 % of the MS salts and supplemented with sucrose 3.0 %. The effect of different concentrations of 6-BAP (0.0, 0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹) was also studied. The best treatment for disinfection of explants was achieved by combining 3.0 % sodium hypochlorite and 10 minutes with a 95 % of explants free of microbial contaminants. While the greater percentage of sprouted explants (90 %) was achieved in the culture medium composed by 50 % of MS salts supplemented with 0.25 mg l⁻¹ of 6-BAP.

Keywords: disinfection, woody species, Guarango, *in vitro* propagation, 6-BAP

T1.29 Efecto del 2,4-D y la Kinetina en la formación de callos de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz

Jenny Núñez^{1*}, Manuel de Fera², Elisa Quiala², Paul Jines¹

¹Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Laboratorio de Cultivo de Tejidos. *jenny@ibp.co.cu; jenenuez@epoch.edu.ec

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

El Guarango es un árbol originario de los Andes, en peligro de extinción en Ecuador, muy útil para los programas de forestación y reforestación y con gran importancia económica. A partir de sus vainas se obtienen taninos y productos muy demandados en la industria alimenticia. Estudios de campo han permitido la selección de ocho genotipos con rendimientos superiores a los 40 kg de vainas por árbol y elevada producción de taninos, a partir de los cuales se propone iniciar un programa de clonación empleando técnicas biotecnológicas. El objetivo principal de este trabajo fue lograr la formación de callos de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) a partir de segmentos de hojas de árboles adultos seleccionados. Se utilizaron hojas jóvenes y visualmente sanas. Después de la desinfección, las hojas fueron seccionadas con segmentos de aproximadamente de 1 cm² y sembradas en un medio de cultivo basal MS con diferentes

concentraciones de 2,4-D y Kinetina para la formación de callos. Se estudiaron tres concentraciones de 2,4-D (2.0, 4.0 y 6.0 mg l⁻¹) y tres de kinetina (3.0, 6.0 y 9.0 mg l⁻¹). Se evaluó el crecimiento de los callos sobre los explantes utilizando la escala de Santana, (1992). La mejor respuesta para la obtención de callo a partir de hojas de *Caesalpinia spinosa* se logró al utilizar el medio de cultivo basal MS, suplementado con 2.0 mg l⁻¹ 2,4-D + 3.0 mg l⁻¹ Kinetina durante 12 semanas, con un subcultivo previo a las 8 semanas. Los callos de este tratamiento fueron clasificados como friables y presentaron una coloración parda con zonas de color amarillo a café y crema.

Palabras clave: biodiversidad, cultivo de tejidos, especie leñosa, guarango

Effect of 2,4-D and Kinetin on callus formation of *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz

The Guarango (*Caesalpinia spinosa*) is a tree native to the Andes. It is an endangered species in Ecuador and very useful for afforestation and reforestation programs with great economic importance. From their pods tannins and products with high demand are obtained for the food industry. Field studies have allowed the selection of eight genotypes from which it is proposed to initiate a program of cloning using biotechnology techniques, as in all cases yields exceeding 40 kg of pods per tree with a high production of tannins. The aim of this study was to obtain callus formation from leaf segments of adult trees. Young and visually healthy leaves were used. After disinfection leaves were cut into segments of approximately 1.0 cm² and placed in a basal culture medium MS with different combinations of 2,4-D (2.0, 4.0 and 6.0 mg l⁻¹) and Kinetin (3.0, 6.0 and 9.0 mg l⁻¹). The formation and growth of calli using the scale described by Santana (1992) was evaluated. The best result for the callus formation from the young leaves of adult trees of *Caesalpinia spinosa* was achieved by using the MS basal culture medium supplemented with 2.0 mg l⁻¹ 2,4-D + 3.0 mg l⁻¹ Kinetin after 12 weeks of culture. The calli of this treatment were classified as friable and had a brown color with areas of yellow to brown and cream color.

Keywords: biodiversity, guarango, tissue culture, woody species

T1.30 Registro de plagas y enfermedades en la producción de *Solanum tuberosum* L. en casa de cultivo con sustrato de zeolita

Yelenys Alvarado-Capó^{1*}, Tatiana Pichardo¹, Mileidy Cruz-Martín¹, Eilyn Mena¹, Berkis Roque¹, Ortelio Hurtado¹, Michel Chamizo¹, Maylin Cruz Martín², Antonia Hernández Valdez², Angel Pérez², Mayra Acosta-Suárez¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *yelenys@ibp.co.cu

²Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Villa Clara. Carretera a Malezas, km 2.5 Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en casas de cultivo con sustrato de zeolita requiere de un manejo agronómico y de plagas y enfermedades adaptado a esas condiciones. El objetivo de este trabajo fue confeccionar un registro de las plagas y enfermedades con incidencia en la producción de tubérculos de papa en casa de cultivo con sustrato de zeolita. En la campaña 2014-2015 se produjeron tubérculos de cinco variedades ('Yara', 'Santana', 'Grettel', 'Romano', 'Ajiba') a partir de minitubérculos y plantas obtenidas *in vitro* en dos casas de cultivo con sustrato de zeolita ubicadas en el IBP. Semanalmente se examinó el 100 % de la población de plantas, se observaron los síntomas, se determinó la incidencia de plagas, enfermedades parasitarias y no parasitarias y se realizaron exámenes microscópicos en el laboratorio. Para ello se tuvieron en cuenta los criterios del Instructivo técnico para la producción de papa en Cuba y el Resumen ampliado de metodologías de señalización y pronóstico de Sanidad Vegetal. Además, se emplearon las claves de identificación tradicionales. Los resultados indicaron que la incidencia de plagas y enfermedades fue baja. Se identificaron cinco plagas: *Spodoptera latifascia* W., *Polyphagotarsonemus latus* Banks, *Thrips palmi* Karny, *Bemisia tabaci* Gennadius y *Dysorycha* sp. Además, se constató la incidencia de las enfermedades Tizón temprano (*Alternaria solani*) y Tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y la presencia del Virus del Mosaico del Tabaco y el Virus Y de la papa. Dentro de las enfermedades no parasitarias se identificaron daños foliares por ozono y desórdenes nutricionales. Contar con un registro de plagas y enfermedades en estas

condiciones de cultivo permitirá diseñar estrategias de control más específicas y efectivas.

Palabras clave: control químico, minitubérculos, papa, plantas *in vitro*

Registry of pests and diseases in the *Solanum tuberosum* L. production at greenhouse with zeolite substrate

The culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) in greenhouses with zeolite substrate requires of an agronomic, pest and diseases management adapted to these conditions. The aim of this work was to make a registry of the pest and disease with incidence in the production of potato tubers in greenhouse with zeolite substrate. In the 2014-2015 campaign, tubers of five varieties ('Yara', 'Santana', 'Grettel', 'Roman', 'Ajiba') were produced from minitubers and *in vitro* plants in two greenhouse located at IBP. Weekly, 100% of the plant population was examined, symptoms were observed, the incidence of pests, parasitic and non-parasitic diseases were determined and microscopic examinations were performed in the laboratory. To do this, it were taking into account the criteria of Technical Instructions for potato production in Cuba and the Expanded Summary of signaling and forecasting methodologies of plant sanitation. Furthermore, traditional identification keys were used. The results indicated that the incidence of pests and diseases was low. Five plagues were identified: *Spodoptera latifascia* W., *Polyphagotarsonemus latus* Banks, *Thrips palmi* Karny, *Bemisia tabaci* Gennadius and *Dysorycha* sp. In addition, the incidence of early blight (*Alternaria solani*) and late blight (*Phytophthora infestans*) diseases and the presence of Tobacco mosaic virus and Potato Y virus were found. Among the non-parasitic diseases foliar damage by ozone and nutritional disorders were identified. Have a record of pests and diseases in these culture conditions allow design strategies for more targeted and effective control.

Keywords: chemical control, *in vitro* plants, minitubers, potato

T1.31 Efecto del tiempo de inmersión sobre la fisiología de los brotes de *Bambusa vulgaris* Schrad. Ex Wendl en Sistemas de Inmersión Temporal

Yudith García-Ramírez^{*1}, Mallelyn González-González², Marisol Freire-Seijo¹, Martha Pérez¹, Leonardo J. Moreno-Bermúdez¹, Ángel Mollineda Trujillo³, Leonardo Rivero¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara 54 830, Cuba. yudith@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

³Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

Los bambúes son especies de gran importancia ambiental por la cobertura que brinda al medio donde crece y por la sujeción del suelo que realiza mediante sus raíces y rizomas. Las bajas tasas de multiplicación y la baja calidad morfo-fisiológica se consideran una de las principales desventajas para la propagación *in vitro* en *Bambusa vulgaris* Schrader ex Wendland. El empleo de sistemas de inmersión temporal (SIT) para la propagación vía organogénesis constituye una alternativa para dar solución a dichas limitantes. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del tiempo de inmersión sobre la morfología y fisiología de los brotes de *B. vulgaris* cultivados en SIT de 1500 ml de capacidad. Con este fin se estudiaron tres tiempos de inmersión uno, dos y tres minutos. Se cuantificó el número de brotes por explante, longitud del brote y el número de hojas expandidas por explante, además se determinó el contenido relativo de agua (CA), contenido de lignina, fenoles y clorofilas totales. El tiempo de inmersión incrementó el número de brotes por explante, así como las características morfológicas y fisiológicas de estos. Dos minutos de inmersión favoreció la formación de brotes con menor contenido de agua, mayor cantidad de lignina, fenoles totales y clorofila total. El aumento de los brotes de *B. vulgaris* en SIT ofrece nuevas perspectivas para aumentar la producción comercial de esta especie, y para estudios que podrían dilucidar respuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas de bambú.

Palabras clave: bambú, hiperhidricidad, edio de cultivo líquido, Semi- automatización

Effect of immersion time on the physiology of shoots of *Bambusa vulgaris* Schrad. Ex Wendl in temporary immersion systems

Bamboos are species of great environmental importance for coverage that provides the environment where it grows by securing land it takes through its roots and rhizomes. Low rates of multiplication and morpho-physiological low quality are considered a major disadvantage for the *in vitro* propagation *Bambusa vulgaris* Schrader ex Wendland. The use of temporary immersion systems (SIT) is an alternative to solve these limitations. This study aimed to determine the effect of immersion time on the morpho-physiology *B.vulgaris* shoots grown in SIT of 1500 ml capacity. To this end three immersion, times one, two and three minutes were studied. The number of shoots per explants shoot length (cm), number of leaves per shoot. In addition, the relative water content, chlorophyll content, total phenol content and lignin were determined. The immersion time increased the number shoots per explants. As well as the morphological and physiological characteristics of these. Two minutes immersion improved shoot formation with lower water content, the greater amount of lignin, phenols and total chlorophyll. The increase of shoots of *B. vulgaris* in TIS offers new prospects for increasing the commercial production of this species, and for studies that could elucidate morphological and physiological responses in plants of bamboo.

Keywords: bamboo, hyperhidricity, liquid culture medium, semiautomation

T1.32 Propagación *in vitro* de variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis'

Mayelín Rodríguez¹, Leyanis García-Águila^{1*}, Kasuni Dilhara Edirisinghage², Ivis Laura Mendez², Mariana La O¹, Marta Pérez¹, Yelenys Alvarado-Capó¹, Manuel De Fera¹, Novisel Veitía¹, Deivis Mirabal¹, Juan Castillo³

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. leyanis@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agrícolas. Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

³Instituto Nacional Ciencias Agropecuaria (INCA). Carretera a Tapaste km 3.5. Gaveta Postal 1. San José de las Lajas. Mayabeque. Cuba.

Las técnicas de cultivo *in vitro* se utilizan para apoyar los procesos de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) porque garantizan la rápida propagación de variedades promisorias, alta estabilidad genética y calidad fitosanitaria. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de cuatro variedades de papa 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' durante el proceso de propagación *in vitro*. Se establecieron de meristemos (0.3-0.5 mm de longitud), se multiplicaron las plantas y se formaron microtubérculos. Se describieron durante todo el proceso de propagación *in vitro* las características morfológicas del material vegetal. El porcentaje de supervivencia de los meristemos y el coeficiente de multiplicación se calcularon y se cuantificó el número de microtubérculos por planta. Los resultados mostraron la respuesta diferencial de las variedades durante su propagación *in vitro*. 'Yuya' e 'Ibis' presentaron los mayores porcentajes de supervivencia de meristemos, con alta frecuencia de plantas de morfología normal, presencia de hojas y raíces. La formación de microtubérculos con diámetro entre 0.1 a 1.0 cm se produjo en todas las variedades y el mayor número por planta se obtuvo en la variedad 'Marinca'. Estos resultados proporcionan información importante que permitirá establecer indicadores de calidad y planificación durante el proceso de propagación *in vitro* de las variedades cubanas de papa.

Palabras clave: meristemos, microtubérculos, morfología, papa, supervivencia

***In vitro* propagation of Cubans varieties of *Solanum tuberosum* L. 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' and 'Ibis'**

The *in vitro* culture techniques are used to support the production processes of potato seed (*Solanum tuberosum* L.) because it ensure the rapid propagation of promising varieties, genetic stability and high quality plant. This study aimed to determine the response of four potato varieties 'Yuya' 'Marinca' 'Grettel' and 'Ibis' during *in vitro* propagation. Meristems were established (0.3-0.5 mm long), multiplied plants and microtubers were formed. During the process of *in vitro* propagation it were described the morphological characteristics of the plant material. The percent survival of the meristems and the multiplication coefficient were

calculated and the number of microtubers per plant was quantified. The results showed a differential response of varieties during *in vitro* propagation. 'Yuya' and 'Ibis' had the highest survival meristem rates, high frequency of plants with normal morphology characterized by dark green color, stem of between 2.5 and 4.5 cm in length and presence of leaves and roots. The microtubers formation with diameters between 0.1 to 1.0 cm occurred in all varieties and the highest number per plant was obtained in variety 'Marinca'. These results provide important information that will establish quality and planning indicators during *in vitro* propagation of Cuban potato varieties.

Keywords: meristems, microtubers, morphology, potato, survival

T1.33 Respuesta en casa de cultivo de cuatro variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. durante la producción de semilla original

Leyanis García-Águila^{1*}, Mayelin Rodríguez¹, Kasuni Dilhara Edirisinghage², Ivis Laura Mendez², Mariana La O¹, Marta Pérez¹, Yelenys Alvarado-Capó¹, Manuel De Fera¹, Novisel Veitia¹, Ortelio Hurtado¹, Juan Castillo³

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *leyanis@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agrícolas. Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

³Instituto Nacional Ciencias Agropecuaria (INCA). Carretera a Tapaste km 3.5. Gaveta Postal 1. San José de las Lajas. Mayabeque. Cuba.

La producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) a partir de plantas procedentes del cultivo *in vitro* garantizará la rápida propagación de variedades promisorias. El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de cuatro variedades cubanas de papa en casa de cultivo para la producción de semilla original. Se emplearon plantas propagadas *in vitro* de las variedades 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' con altura entre 4.5 y 6.0 cm, se plantaron a una distancia de 10 x 10 cm sobre un sustrato compuesto por materia orgánica (100 %). A los 15

días de cultivo se cuantificó el número de plantas vivas y se calculó el porcentaje de supervivencia. Posteriormente, cada 15 días y hasta los 90 días de cultivo se determinó la masa fresca y seca del follaje y sistema radical y la tasa absoluta y relativa de crecimiento. A los 75 días de cultivo se describieron las características morfológicas de las hojas y minitubérculos, se cuantificó el número de minitubérculos por plantas, se midió el diámetro, determinó la masa fresca y seca de los tubérculos. Los resultados indicaron que la supervivencia de las plantas fue alta en las cuatro variedades (>96.5 %). Las características de las hojas y los tubérculos se correspondieron con las descritas para cada variedad y no se encontraron plantas fuera de tipo. Las tasas de crecimiento y la producción de minitubérculos fueron dependientes de la variedad. El mayor número de minitubérculos por planta se obtuvo en la variedad 'Ibis' mientras que el mayor número con calibre de semilla (28-35 cm de diámetro) fue en la 'Yuya' y 'Grettel'. Ello indicó que se requieren manejos agronómicos diferentes para lograr el mayor número de tubérculos con calibre de semilla en estas condiciones.

Palabras clave: minitubérculos, morfología, papa, tasa de crecimiento

Response in green house of four cuban varieties of *Solanum tuberosum* L. during the production of original seed

The production of seed potato (*Solanum tuberosum* L.) plants coming from *in vitro* culture will ensure the rapid spread of promising varieties. The aim of this study was to determine the response of four Cuban varieties of potatoes growing house production of original seed. *In vitro* propagated varieties 'Yuya' 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' height between 4.5 and 6.0 cm plants were used; they were planted at a distance of 10 x 10 cm on a substrate composed of organic material (100 %). After 15 days of cultivation, the number of living plants was measured and the percent survival was calculated. Then every 15 days to 90 days of culture fresh and dry mass of foliage and root system and the absolute and relative growth rate was determined. At 75 days of culture the morphological characteristics of leaves and minitubers were described, the number of minitubers per plant was measured, the diameter was measured, determined the fresh and dry mass of tubers. The results indicated that the survival of the plants was higher in four varieties (>96.5 %). The characteristics of the leaves and

tubers were consistent with those described for each variety and no off-types were found. Growth rates and production of minitubers were dependent on the variety. The largest number of minitubers per plant was obtained in the range 'Ibis' while the more-caliber seed (28-35 cm in diameter) was in the 'Yuya' and 'Grettel'. This suggested that different agricultural management are required to achieve the highest number of seed tubers caliber in these conditions.

Keywords: minitubers, morphology, potato, growth rate

T1.34 Efecto del 2,4-D sobre la formación de callos con estructuras embriogénicas en *Cedrela odorata* L.

Mallelyn González-González¹, Yudith García-Ramírez², Martha Pérez², Marisol Freire², Leonardo Rivero²

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba. *mallelyngg@uclv.edu.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba

Cedrela odorata L. (cedro) es una especie importante para la industria agroforestal. La propagación tradicional no satisface la demanda de material vegetal para reforestar o para la producción comercial de madera. Sin embargo, la regeneración de plantas vía organogénesis no es eficiente, debido a la muerte de los tejidos durante la multiplicación *in vitro*. La embriogénesis somática, constituye una alternativa eficiente para dar solución a dicha problemática. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del 2,4-D sobre la formación de callos con estructuras embriogénicas en cedro. Se estudiaron tres concentraciones 1.0, 2.0 y 4.0 mg l⁻¹ de este regulador. A las siete semanas de cultivo se cuantificó el número de callos con estructuras embriogénicas, el número de callos libres de contaminantes microbianos visibles y la oxidación fenólica. Se determinó que con 1.0 mg l⁻¹ de 2,4-D se incrementó el número de callos con estructuras embriogénicas. Los resultados de este trabajo contribuirán al desarrollo de un protocolo para la regeneración de plantas vía embriogénesis somática en cedro.

Palabras clave: cedro, explantes, embriogénesis somática, reguladores del crecimiento

Effect of 2,4-D on callus formation with embryogenic structures in *Cedrela odorata* L.

Cedrela odorata L. (cedar) is an important species for the industry agroforestry. The traditional propagation does not satisfy the demand for plant material to reforest or for commercial timber production. However, plant regeneration via organogenesis it is not efficient because of the death of tissues during *in vitro* multiplication. Somatic embryogenesis is an efficient alternative to solve this problem. The objective of this work was to determine the effect of 2,4-D on callus formation with embryogenic structures cedar. Three concentrations 1.0, 2.0 and 4.0 mg l⁻¹ of this growth regulator were studied. At seven weeks of culture, the number of callus with embryogenic structures, the number of free callus visible microbial contaminants, phenolic oxidation, were quantified. It was determined that with 1.0 mg l⁻¹ 2,4-D the number of callus with embryogenic structures was increased. The results of this study contribute to the development of a protocol for plant regeneration via somatic embryogenesis in cedar.

Keywords: cedar, explants, growth regulators, somatic embryogenesis

T1.35 Evaluación en campo de la estabilidad genética de plantas de banano cv. híbrido 'FHIA 01' (*Musa* AAAB) propagadas por embriogénesis somática

Ortelio Hurtado, Leyanis García-Águila*, Zoe Sarría, Alexis Concepción, Miladis León, Michel Chamizo, Deivis Mirabal, Blanca Pérez, Leonardo Quintana, Eloisa Rodríguez, Zaida Pérez

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *leyanis@ibp.co.cu

La regeneración de plantas del banano 'FHIA-01' (*Musa* AAAB) por embriogénesis somática constituye una alternativa para su propagación masiva en un corto período de tiempo. Sin embargo, se precisa conocer la respuesta en campo de las plantas y la incidencia de variación somaclonal. En este sentido, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar en

condiciones de campo la estabilidad genética de las plantas a través de la observación de los caracteres morfológicos. Para este estudio se plantaron 5 252 plantas con una densidad de plantación de 3 333 plantas por hectárea, a una distancia de 3x2x1.20m y diseño experimental de Cuadrado Latino. A los 6 meses se evaluaron los caracteres morfológicos de mayor aporte a la detección de la variabilidad genética (altura de la planta, (m), diámetro del pseudotallo (cm) y se cuantificaron y describieron las plantas con variaciones fenotípicas. Los resultados mostraron una alta estabilidad genética en las plantas, dado por el bajo porcentaje de variación somaclonal. Las principales variaciones fenotípicas detectadas fueron plantas con hojas deformadas y plantas con cambio de coloración en las hojas y el pseudotallo. Estos resultados permitirán identificar las variantes somaclonales en plantas propagadas por embriogénesis somática del banano 'FHIA 01' y demuestra la fiabilidad de la propagación masiva por este sistema de regeneración.

Palabras clave: 'FHIA 01', embriogénesis somática, morfología, variación somaclonal

Field evaluation of genetic stability of banana plants cv. 'FHIA 01' (*Musa* AAAB) obtained by somatic embryogenesis

The regeneration of banana plants 'FHIA-01' (*Musa* AAAB) by somatic embryogenesis is an alternative for mass propagation in a short period. However, it is necessary to know the response field plants and the incidence of somaclonal variation. In this sense, this research was to evaluate under field conditions the genetic stability of the plants through observation of morphological characters. For this study, 5,252 plants were planted with a planting density of 3,333 plants per hectare, at a distance of 3x2x1.20m and Latin Square experimental design. At 6 months morphological characters greater contribution to the detection of genetic variability (plant height (meters), pseudostem diameter (cm) and quantified and described plants with phenotypic variations were evaluated. The results showed a high genetic stability in plants, given the low percentage of somaclonal variation. The main phenotypic variations detected were plants with deformed and plants with discoloration on the leaves and the pseudostem leaves. These results allow identification of somaclonal variants in propagated plants somatic embryogenesis of

banana 'FHIA 01' and demonstrates the feasibility of mass propagation by this system regeneration.

Keywords: 'FHIA 01', somatic embryogenesis, morphology, somaclonal variation

T1.36 Evaluación de la desecación de embriones somáticos durante la propagación comercial de plátanos y bananos en Biofábrica

Zoe Sarria Hernández*, Leyanis García-Águila, Rafael Gómez-Kosky, Alexis Rodríguez, Miladys León, Zaida Pérez, Blanca Pérez, Eloísa Rodríguez, Tereza Salabarría, Alina Broche, Yaslenis Cuevas, Yunianela Peralta Bernal, Nedexi Sotolongo Machado, Damicela Machado, Elizabeth Peralta, Idanis Pérez Alba, Adiley Navarro Veitia, María Torrez, Marlon Mesa, Carlos Gálvez y Geidy Camacho

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní. km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. *zoe@ibp.co.cu

El Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) ha venido trabajando desde el año 2007 en el escalado de la embriogénesis somática para la producción de plantas *in vitro* de plátanos y bananos. Sin embargo, existen algunos aspectos que afectan la eficiencia como el bajo porcentaje de embriones germinados y el prolongado periodo de tiempo en obtener plantas de calidad morfológica para llevar a la fase de aclimatización. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la desecación de los embriones somáticos durante la propagación comercial de plátanos y bananos para incrementar la germinación y el número de plantas, en menor periodo de tiempo. Para ello, los embriones fueron expuestos a condiciones de desecación durante 10 días y posteriormente continuaron el proceso de propagación con dos transferencias a medio de cultivo fresco cada 30 días. Los resultados mostraron un incremento en el número de embriones somáticos germinados, en menor periodo de tiempo. Las plantas obtenidas presentaron alta supervivencia en fase de aclimatización. Estos resultados permitieron el cumplimiento de los compromisos de producción de plantas con la comercialización a diferentes provincias de país.

Palabras clave: embriogénesis somática, germinación, *Musa*

Evaluation of desiccation of somatic embryos in commercial propagation of bananas and bananas in Biofactory

The Institute for Plant Biotechnology (IBP) has been working since 2007 on the scale of somatic embryogenesis for the production of *in vitro* plants of banana and plantain. However, some aspects affect the efficiency and the low percentage of germinated embryos and prolonged period to obtain plants morphological quality to carry the acclimatization phase. This study aimed to evaluate the desiccation of somatic embryos for commercial propagation of bananas and bananas to increase germination and number of plants in less time. To do this, embryos were exposed to drying conditions for 10 days and then continued propagation process with two transfers to fresh culture medium every 30 days. The results showed an increase in the number of germinated somatic embryos, in less time. The plants obtained showed high survival acclimatization phase. These results allowed the implementation of the commitments of plant production with marketing to different provinces of the country.

Keywords: somatic embryogenesis, germination, *Musa*

T1.37 La innovación tecnológica en la propagación de plantas en el Instituto de Biotecnología de las Plantas

Freire-Seijo M*, Osvaldo Fernández Martínez, Leyanis García-Aguila y Zoe Sarria

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. CP 54 830. Cuba. *marisolf@ibp.co.cu

La evolución en el diseño de la innovación tecnológica del Instituto de Biotecnología de las Plantas es un ejemplo de un proceso complejo debido a la influencia de factores muy diversos. Este fue un proceso de aprendizaje que inicialmente surgió por la necesidad de ofertar semillas de alta calidad para la empresa estatal y paulatinamente se incorporaron pequeños y medianos productores como usuarios de los productos generados. Los actores que participaron en éste proceso no previeron todas las aristas del resultado final. Desde el punto de vista de las temáticas abordadas en las innovaciones, el desarrollo del IBP se ha dividido

en dos etapas, la primera de ellas referida a la propagación de plantas empleando la organogénesis y la segunda referida a la embriogénesis somática. En ambas fue preciso implementar estrategias de trabajo y escalados productivos en Biofábricas con características muy diferentes. Las etapas y velocidad de desarrollo de las innovaciones fueron moldeadas por factores internos y externos que transitaban por aspectos como la voluntad política, las estrategias internas de trabajo, la legislación, la madurez profesional del colectivo y la demanda comercial a nivel nacional e internacional. La presión ejercida por el colectivo y el ambiente externo permitieron expresar las capacidades innovadoras de diferentes formas, ajustadas a escenarios diversos enmarcados en el territorio nacional o extranjero. Para cada innovación específica variaron las formas de diseñar, desarrollar, implementar y gestionar las tecnologías maduras. La organización estratégica y de infraestructura permite desarrollar un modelo de articulación entre el desarrollo de investigaciones básicas, aplicadas, el escalado piloto y el escalado productivo. Este modelo permite disponer hoy de productos comerciales y transferencias de tecnologías a instituciones del sector académico y empresarial.

Palabras clave: escalados, propagación de plantas, biofábrica

Technological innovation in propagation of plants at the Instituto de Biotecnología de las Plantas

Developments in the design of the technological innovation of the Institute of Plant Biotechnology is an example of a complex process due to the influence of many different factors. This learning process initially arose from the need to offer high-quality seeds to the state company and gradually small and medium producers and users of products obtain were incorporated. The actors involved in this process did not foresee all the edges of the end result. From the point of view of the themes addressed in the innovations, the development of IBP has been divided into two stages, the first of which refers to the propagation of plants using organogenesis and the second referring to somatic embryogenesis. Both strategies had to be implemented and scaled productive work Biofactories with very different characteristics. The steps and speed of development of innovations were shaped by internal and external factors that transited areas

such as political will, the internal working strategies, legislation, collective professional maturity and market demand nationally and internationally. The pressure exerted by the group and the external environment allowed express innovative capacities of different forms, adapted to different scenarios framed in the country or abroad. For each specific innovation varied forms of design, develop, deploy and manage mature technologies. Strategic and organizational infrastructure enables the development of a model for linking the development of basic research, applied, scaling pilot and production scale. This model allows having today's commercial products and transfers of technology to academic institutions and business sector.

Keywords: scaled, plant propagation, biofactory

T1.38 Control de las contaminaciones y la necrosis apical de algunas especies de plantas con Nanopartículas de plata (AgNPs)

Iris Capote Betancour^{1*}, Mariela Cid Ruiz¹, Marcos Daquinta Gradaille¹, Jericó Bello-Bello², Nina Bogdanchikova³, ²Maritza Escalona¹

¹Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km 9. CP 69 450. Cuba. *icapote@bioplasmas.cu

²Colegio de postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México.

³Centro de Nanociencias y Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

En el cultivo de células y tejidos vegetal la contaminación provocada por hongos y bacterias es la causa principal de la pérdida de explantes. Los hongos y bacterias crecen rápidamente. Las Nanopartículas de plata han resultado efectivas en la inhibición del crecimiento de agentes contaminantes, por su acción bactericida, fungicida y viricida de amplio espectro, sin generar resistencia. El AgROVIT-CP se utilizó en la esterilización de los medios de cultivo de Hierba dulce (*Stevia rebaudiana*) a diferentes concentraciones (50, 100, 150, 200 mg l⁻¹) para evaluar la dosis a la que se logra la esterilización del mismo en los Sistemas de Inmersión Temporal y en el Pistacho (*Pistacea* sp.) se utilizaron las concentraciones de 50, 100 y 150

mg l⁻¹ en el medio de cultivo para evaluar su efecto sobre la necrosis apical presentada en las plantas *in vitro*. En la Hierba dulce se trabajó con un control esterilizado en autoclave mientras que en el pistacho el control fue el medio de cultivo de multiplicación sin nanopartículas. En la hierba dulce, se logró la esterilización del medio de cultivo, evaluado por test de contaminantes enriquecido con agar nutrientes a las concentraciones de 50 y 100 mg l⁻¹ de AgROVIT-CP. En la morfogénesis de esta planta las concentraciones de 150 y 200 mg l⁻¹ provocaron una reducción en el número entrenudos. En el Pistacho se logró reducir la necrosis apical a 5 % y 2.9 %, con respecto al 28 % obtenido en el control. Mientras que en la morfogénesis el empleo de nanopartículas redujo el coeficiente de multiplicación.

Palabras clave: plata, morfogénesis, yerba dulce, pistacho

Control of contaminants and apical necrosis in plants species with silver Nanoparticles (AgNPs)

Contamination by fungi and bacteria is the main cause of the loss of explants in plant cell culture and tissue. Fungi and bacteria grow rapidly. Silver nanoparticles have been effective in inhibiting the growth of contaminating agents, by its bactericidal, fungicidal and virus broad spectrum, without generating resistance. The AgROVIT-CP, at different concentrations (50, 100, 150, 200 mg l⁻¹), was used to evaluate the effect on medium sterilization in Temporary Immersion Culture. To Pistachio (*Pistacea* sp.) was also evaluated the concentrations of 50, 100 and 150 mg l⁻¹ in the culture medium (semi-solid) were used to evaluate its effect on necrosis apical presented in the *in vitro* plants. To Sweet Grass we worked with an autoclaved control while in pistachio the control was the multiplication culture medium without nanoparticles. In sweet grass, sterilization of the culture medium, evaluated by test contaminant enriched nutrient agar at concentrations of 50 and 100 mg l⁻¹ was achieved AgROVIT-CP. In this plant, morphogenesis was affected. Concentrations of 150 and 200 mg l⁻¹ caused a reduction in the number nodos. In the Pistachio, it was able to reduce the apical necrosis to 5 % and 2.9 % compared to 28 % obtained in control. While the use of nanoparticles reduced the multiplication rate.

Keywords: silver, morphogenesis, sweet grass, pistacia

T1.39 Los Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT®) y la producción de microbulbos de *Lilium*

M Escalona¹, Yarianne Lezcano¹, Mariela Cid¹, Lelurlys Nápoles¹, Marcos Daquinta¹, Arturo Matos¹, Margarita García², Alfonso Herrera², Bárbara Companioni¹

¹Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km 9. CP 69 450. Cuba. *mescalona@bioplasmas.cu

²Laboratorio VITROALMA, México.

Los cultivares de *Lilium* son muy populares en algunos países de América, Europa y Asia por sus atractivas y hermosas flores. Los bulbos se producen comercialmente para la producción de flor cortada y plantas en maceta. La propagación *in vitro* a partir de escamas en medio de cultivo semi-sólido ha sido muy utilizada para la producción de plantas y la introducción de nuevas variedades. El protocolo para la propagación de microbulbos de *Lilium* en el Biorreactor de Inmersión Temporal (BIT®) se estableció en el Centro de Bioplasmas en colaboración con el Laboratorio Comercial VITROALMA de México. El mismo comprende dos etapas, una de multiplicación a partir de escamas pre-inducidas en medio de cultivo semisólido y otra de crecimiento de los microbulbos en el propio BIT® previo a su trasplante *ex vitro*. El protocolo se validó en variedades del tipo *orientalis* (Conca'dor, Santander Blanco) y *Asiáticas* (naranja, Litowen). Se compararon dos métodos de cultivo: medio de cultivo semisólido y BIT®, así como el efecto de la prolongación de la fase multiplicación (45 y 90 días) en la calidad de los microbulbos. El número de microbulbos/escama fue mayor en las variedades Conca'dor y Santander Blanco (4,5) con diferencias significativas respecto a la variedad Naranja (2.0). Los microbulbos de la Conca'dor fueron los de mayor calibre (circunferencia 7,25 cm) así como el número de escamas por microbulbo (11.9). No se encontraron diferencias en la masa fresca de los microbulbos entre las variedades. Al comparar los métodos de cultivo (semi-sólido y el BIT®) en el número de escamas/microbulbo y la circunferencia (calibre), el BIT® incrementó la

calidad de los mismos en las variedades. La prolongación de la fase de multiplicación de 45 a 90 días no influyó en el número de escamas/microbulbo, pero sí se lograron microbulbos con mayor masa fresca (7.9 g), circunferencia (6.7 cm), y un mayor número de mb/escamas (4.0). El BIT® resultó un método de cultivo eficiente para la propagación masiva de microbulbos previo a la aclimatización y endurecimiento y muy exitoso para la obtención de bulbos para plantaciones y flores.

Palabras clave: escamas, inmersión temporal, *Lilium*, microbulbo

Temporary Immersion Bioreactor (BIT®) and *Lilium* microbulbs production

Lilium cultivars are very popular in some countries of America, Europe and Asia, mainly because of their large, attractive flowers. Bulbs are produced commercially for use in the cut-flower and potted-plant industries. Propagation *in vitro* of bulb-scales have been used to plant production and the introduction of new variety. The protocol using Temporary Immersion Bioreactor (BIT®) was established in collaboration with commercial lab VITROALMA from Mexico and it included two steps: multiplication from scale previously induced in semisolid medium (45 days) and growing (60 days) in the same BIT®. Protocol was evaluated in *Orientalis* varieties (Conca'dor and Santander Blanco) and *Asiatic* (naranja and Litowen). Two culture methods (semi-solid and BIT®) were compare as well as the effect of prolongation of culture on micro bulbs quality. The number of micro bulbs/scales was higher (4.5) in Conca'dor and Santander Blanco in comparison to naranja (2.0). Micro bulbs of Conca'dor showed high circumference (7.25 cm) and the scale number per microbulbs (11.9). Mass fresh was not different among varieties. Generally microbulbs from Naranja and Santander Blanco varieties were smaller, as a consequence of lower number of scale. The immersion culture method increase the size (circumference) and the number of scale per microbulbs in the varieties. The prolongation of culture in BIT® from 45 to 90 days did not influence the number of scale per microbulbs, however increased fresh mass (7.9 g), circumference (6.7 cm) and number of scale per microbulb (4.0). BIT® is an efficient culture method for mass propagation of microbulbos of *Lilium* previous acclimatization and hardening and very successful to obtain bulbs for field growing and flower.

Keywords: *Lilium*, scales, microbulbs, temporary immersion culture

T1.40 Propagación *in vitro* de *Gerbera jamesonii* en los biorreactores de inmersión temporal (BIT®)

Osbel Mosqueda^{1*}, Marcos Daquinta¹, Yarianne Lezcano¹, Danilo Pina¹, Iris Capote¹, Karel Vives¹, Arturo Matos¹, Luzgrey González¹, Margarita García², Alfonso J. Herrera², Maritza Escalona¹

¹Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km 9. CP 69 450. Cuba. *omosqueda@bioplasmas.cu

²Laboratorio VITROALMA, México.

La Gerbera o margarita de Transvaal es originaria del sur de África. Las variedades comerciales son híbridos producto del cruzamiento de *Gerbera jamesonii* y *Gerbera viridifolia*. Es una de las flores de corte que más se comercializa por su gama de colores y su adaptabilidad. Se propaga por semillas, de forma vegetativa y por cultivo de tejidos. Con el objetivo de establecer un protocolo para la proliferación de esta planta se empleó el Biorreactor de Inmersión Temporal (BIT®). Se evaluó el efecto de la frecuencia de inmersión (6, 8 y 12 horas), el suplemento de aire adicional (1 min/2 horas). Además se determinó el tiempos de proliferación (14, 21, 28 y 35 días), el volumen de medio de cultivo (20, 30 y 40 ml/explante) y el tipos de explante (brotes individuales y dos y tres brotes) en la multiplicación y calidad de los brotes. En la tasa de multiplicación no hubo diferencias significativas entre las frecuencias. Sin embargo, en la frecuencia de inmersión cada 6 horas, los brotes presentaron mayor masa fresca, masa seca y un alto grado de hiperhídricidad. Los brotes con aire adicional a la frecuencia cada 8 horas presentaron menor contenido relativo de agua (89.8 %) y la hiperhídricidad se redujo al 5.2 %. El tiempo de proliferación de 28 días, 40 ml de medio de cultivo/explante y tres brotes como explante aumentaron la tasa de multiplicación y la calidad de los brotes.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, flores, inmersión temporal

***In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* in bioreactor inmersión system (BIS®)**

Gerbera or Transvaal daisy is native to southern Africa. Commercial varieties are hybrids product of crossing (*Gerbera jamesonii* and *Gerbera viridifolia*). It is one of the most cut flowers sold for its range of colors and adaptability. It spreads by seeds and vegetative way and by tissue culture. In order to establish a protocol for the proliferation of this plant the temporary immersion bioreactor (BIT®) was used. The effect of immersion frequency (6, 8 and 12 hours), additional air supplement (1 min/2 h) was evaluated. In addition the time proliferation (14, 21, 28 and 35 days) was determined, the volume of culture medium (20, 30 and 40 ml /explant) and the types of explant (single buds and two and three buds) in multiplication and quality of shoots. In the multiplication rate, no significant differences between the frequencies were found. However, in the immersion frequency every 6 hours, shoots had higher fresh weight, dry weight and a high degree of hyperhydricity. Shoots with additional air to the frequency every 8 hours had lower relative water content (89.8 %) and hyperhydricity was reduced to 5.2 %. Proliferation time 28 days, 40 ml of culture medium/explant and three buds increased the multiplication rate and quality of shoots.

Keywords: flowers, *in vitro* culture, temporary immersion culture

T1.41 Estrategia para el perfeccionamiento del sistema de semilla biotecnológica de caña de azúcar en Cuba

Héctor García*, Ramiro Castillo, Mayra Jiménez, Mérida Rodríguez, José M. Mesa, Aydiloide Bernal, Zenaída Ocegüera, María La O, Odalmis Dihigo

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Carretera CUJAE Km. 1½, Boyeros, La Habana, Cuba. *hectorgp@inica.azcuba.cu

El uso de herramientas biotecnológicas, complementa el Programa de Mejora Genética de la caña de azúcar en Cuba. Una parte de la semilla categorizada proviene de plantas cultivadas *in vitro*, lo que acorta el plazo de establecimiento de las nuevas variedades y alarga el período útil de explotación de las establecidas. Implementar la estrategia, significó realizar los ajustes necesarios para resolver los problemas presentados y lograr la máxima eficiencia y potencialidad. A partir del flujograma, un grupo

multidisciplinario de especialistas, evaluaron íntegramente el proceso, identificaron los puntos críticos y propusieron las soluciones más adecuadas. Los cambios introducidos en la conducción de los bancos de plantas donantes, incrementaron 50 % de líneas diagnosticadas sanas, lo que implicó 45 % más de plantas cultivadas *in vitro* producidas en 2015, respecto al año precedente.

Palabras clave: caña de azúcar, estrategia, plantas *in vitro*, semilla

Strategy to improve Biotechnology methods to obtain sugarcane “seed” in Cuba

Biotechnology methods are used in Cuba in order to improve of sugarcane. Vitro-plants are a considerable portion of the categorized ‘seed’ in Cuba. This method increase the life of the more important varieties and reduce the introduction of the new ones. Strategy of Biotechnology in sugarcane in Cuba is able to make the right changes in order to obtain the best economic benefits. An ‘ad hoc’ group of specialists improves process of sugarcane biotechnology in Cuba. They identified critical points of process and made necessary corrections. The improve of the biotechnology process of sugarcane in Cuba increased in 50 % the lines with healthy diagnosis. The fact increased in 45 % the vitro-plants production in 2015.

Keywords: *in vitro* plants, seed, strategy, sugarcane

T1.42 Indirect somatic embryogenesis of *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. in semisolid culture medium

Mariana La O Cárdenas, Elisa Quiala, Raúl Barbón, Mayelín Rodríguez, Raúl Collado*

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *raulc@ibp.co.cu

Biotechnological techniques are an alternative for the propagation of the *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. However, the micropropagation employing regeneration via organogenesis of this specie has had little or non development due to the big problems of contamination and the low indexes of *in vitro* multiplication of plants. Therefore, the

somatic embryogenesis could play an important role in the propagation of this woody specie, but non-synchronic somatic embryos differentiation and maturation greatly affect their germination. In order to improve an indirect somatic embryogenesis protocol immature cotyledons were used as plant material. Different growth regulators and their concentrations were studied to the development of the indirect somatic embryogenesis stages. Using a semisolid culture medium composed by MS salts with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (4.0 mg l^{-1}) favored the callus formation. The best percentage of high frequency somatic embryogenesis (56.18 %) was obtained with the addition of 1.0 mg l^{-1} 6-benzylaminopurine in the culture medium. With abscise acid and casein hydrolysate, the synchronization of differentiation and maturation stages of the somatic embryos increased. The greatest percentage of germination (80 %) of the somatic embryos was obtained in the culture medium without growth regulator. The culture medium and concentrations of growth regulators for improving the indirect somatic embryogenesis in *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. were defined.

Keywords: callus, *Mahagoni*, somatic embryos, woody specie

T1.43 Microinjertos en papaya (*Carica papaya* Lin.) como alternativa para propagación *in vitro* de plantas hermafroditas

Víctor R. Medero Vega*, Yanelis Bravo Corrales, Marlenys Torres Delgado, Milagros Basail Pérez, Aymé Rayas Cabrera, Jorge López Torres, Arletys Santos Pino, Wilfredo Caballero Álvarez, Carmen Pons Pérez, Dablys Guerra Hernández y Jesús García Ruiz

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba. *vicedir.biotec@inivit.cu

En Cuba, los frutales constituyen cultivos de gran importancia y dentro de estos la papaya (*Carica papaya* Lin.) es una de las especies de mayor interés para la alimentación humana por su alto contenido de proteínas y vitaminas en el fruto. La principal limitante para su desarrollo lo constituye la poca homogeneidad de las plantas en cuanto a la producción de frutos elongatas para la extracción de semilla. Sin embargo, el cultivo de tejidos constituye una alternativa para la multiplicación asexual de plantas hermafroditas.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del INIVIT, con el objetivo de establecer un protocolo para la propagación de plantas hermafroditas de papaya variedad 'Maradol Roja', mediante microinjerto *in vitro*. Se definió el medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* a partir embriones cigóticos con más del 90 % de germinación. Se obtuvieron plantas hermafroditas que fueron utilizadas como "copa" sobre un patrón enraizado de la propia variedad. En condiciones *in vitro* se injertaron brotes de 1 cm de longitud sobre plántulas de embriones cigóticos, cortadas transversalmente y con un corte en forma de V. Además, fueron diseñadas presillas para garantizar el cierre del corte en el injerto y se evaluó el porcentaje de éxito a los 8, 12 y 16 días. Se logró por primera vez en Cuba la microinjertación de este cultivo, con más del 90 % de sobrevivencia y estos resultados constituyen una alternativa para resolver los problemas del enraizamiento *in vitro* y la aclimatización de esta especie.

Palabras clave: microinjerto, plantas hermafroditas, propagación *in vitro*

Micrografts in papaya (*Carica papaya* Lin.) as an alternative to *in vitro* propagation of hermaphrodite plants

In Cuba, fruit crops are of great importance and within these the papaya (*Carica papaya* Lin.) is one of the most interesting species for human consumption due to its high content of protein and vitamins in the fruit. The main limitation for their development constitutes the low uniformity by regarding elongates producing fruit for seed extraction. However, the tissue culture is an alternative to the asexual multiplication of hermaphrodites. The research was conducted at the Laboratory of Biotechnology INIVIT, in order to establish a protocol for the propagation of plants hermaphrodite papaya variety 'Maradol Roja' by micrografts *in vitro*. The culture medium for establishing *in vitro* zygotic embryos from more than 90 % germination was defined. Hermaphrodite plants were used as "cup" on a variety rooted pattern itself is obtained. *In vitro* conditions outbreaks 1 cm long on seedlings zygotic embryos, cut crosswise and with a shaped cut "V". Furthermore grafted were designed you clips to secure the closure of the cut in the graft and the success rate was evaluated at 8, 12 and 16 days. The micrografting of this crop was achieved for the first time in Cuba, with more than 90 % survival and these results are an alternative

to solve the problems of *in vitro* rooting and acclimatization of this species.

Keywords: micrografts, hermaphrodite plants, propagation *in vitro*

T1.44 Implementación de una prueba RT-PCR para la detección del Viroide del Enanismo del Crisantemo (CSVd)

Mateo Munera-Manco^{1*}, Lina Correa¹, Gabriel Saldarriaga², Diego Martínez Rivillas¹

¹Universidad CES-Programa de Biología CES-EIA Medellín, Colombia. *dmartinez@ces.edu.co

²Deliflor- Chrysanten Latinoamérica. Carmen de viboral, Antioquia, Colombia

El enanismo del Crisantemo es una enfermedad ocasionada por el viroide CSVd, un pospiviroides de cadena sencilla de RNA de 354pb de tamaño. Debido a que la enfermedad afecta la calidad y la permanencia de los cultivos, genera grandes pérdidas económicas a los floricultores además de ser un alto riesgo fitosanitario por su alta capacidad de diseminación. En este trabajo, se implementó una metodología para la detección del viroide en *Chrysanthemum sp.*, utilizando RT-PCR y sondas TaqMan acorde con los estándares internacionales sugeridos por la EPPO. Los resultados arrojaron una alta sensibilidad de la prueba permitiendo la detección del viroide en el 100% de los casos.

Palabras clave: *Chrysanthemum*, CSVd, enanismo, TaqMan(R) RT-PCR, viroide

Implementation of a RT-PCR test for detection of Chrysanthemum Stunt Viroid (CSVd)

Chrysanthemum stunt is a disease caused by CSVd viroid, a single chain pospiviroid RNA size 354pb. The disease affects the quality and permanence of crops generate large economic losses to growers as well as being a high phytosanitary risk for the high capacity that has viroid to spread. In this paper, we implement a methodology for the detection of viroid in *Chrysanthemum sp.*, using RT-PCR and TaqMan(R) probe according to international standards suggested by the EPPO. The results showed a high sensitivity of the assay enabling detection of the viroid in 100 percent of cases.

Keywords: *Chrysanthemum*, CSVd, stunt, TaqMan(R) RT-PCR, viroid

T1.45 Efecto de la sacarosa y maltosa en la maduración de embriones somáticos de soja variedad 'Incasoy-27'

Jorge Pérez Pérez^{1,2*}, Lourdes R García², Novisel Veitía Rodríguez², Idalmis Bermúdez-Caraballosa², Raúl Collado López², Damaris Torres Rodríguez²

¹Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Universidad de Granma. Carretera vía Manzanillo, km 17.5, Bayamo, Granma, Cuba. CP 85 100. *jperez@udg.co.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní, km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

La embriogénesis somática es un método eficiente para la producción de células dianas para la transformación genética. Sin embargo, en soja esta vía de regeneración tiene como limitante el bajo porcentaje de conversión a planta que se obtiene, atribuido a la presencia de embriones somáticos con morfologías anormales durante la fase de maduración. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la sacarosa y la maltosa en la maduración de los embriones somáticos de soja. Se empleó un medio de cultivo que contenía sacarosa o maltosa 6,0% y carbón activado, cultivados en cámara de crecimiento con luz solar durante ocho semanas. Se encontró que el tipo de fuente de carbono influyó en la maduración de los embriones somáticos. Se logró el mayor porcentaje de embriones somáticos maduros con morfología dicotiledonal cuando se utilizó la maltosa como fuente de carbono. Fue posible la regeneración de plantas completas en el cultivar cubano de soja 'Incasoy-27'.

Palabras clave: embrión somático, fuente de carbono, *Glycine*, *in vitro*, regeneración

Effect of the sucrose and maltose on somatic embryos maturation of soybean variety 'Incasoy-27'

Somatic embryogenesis is an efficient method for producing target cells for genetic transformation. However, this pathway soybean regeneration has as limiting the low percentage conversion plant is

obtained, attributed to the presence of somatic embryos with abnormal morphology during the maturation phase. This study aims to determine the effect of sucrose and maltose in maturing soybean somatic embryos. It was used a culture medium containing sucrose or maltose 6.0% activated carbon and grown in growth chamber with sunlight for eight weeks. The highest percentage of mature somatic embryos was achieved with dicotyledonal morphology when maltose as carbon source was used. The regeneration of whole plants in the Cuban soybean cultivar 'Incasoy-27' was achieved.

Keywords: carbon source, *Glycine*, *in vitro*, regeneration, somatic embryos

TALLER MEJORA GENÉTICA

T2.1 Plant and fungus genome engineering using the CRISPR-Cas9 system: impact in the breeding programs

Orlando Borrás-Hidalgo
Center for Genetic Engineering and
Biotechnology, Havana, Cuba.
orlando.borras@cigb.edu.cu

Breeding plants to meet the demands of a population has driven agricultural progress throughout history. However classical methods of plant breeding can be time-consuming, meanwhile genetically modified crops have been mired in controversy with regards to the potential environmental and health implications of transgenic. New techniques have been developed that are faster than traditional breeding methods but notably do not involve the introduction of foreign DNA. The latest in this group of new plant breeding techniques is the CRISPR/Cas system for genome editing. We discuss this technique and its applications for plant and fungus genome engineering and the advances this new technique heralds and its potential agricultural impact.

Keywords: fungus, plant breeding, transgenic plants

T2.2 Evaluación de la tolerancia a la salinidad del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) durante la germinación y crecimiento de las plántulas

Amelia Capote Rodríguez*, Nelson León Nicolau, Adriana Torres Martínez, Odalys Pérez Díaz

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Calle 188 # 38 754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. Municipio Boyeros. La Habana. Cuba. *dircientifica@inifat.co.cu

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una especie sensible a la salinidad que reduce su rendimiento a una conductividad eléctrica de 2 dS.m⁻¹. Bajo estas condiciones se manifiesta una reducción del porcentaje de germinación, el crecimiento y los rendimientos. En este estudio se evaluó la respuesta fisiológica a la salinidad inducida por cloruro de sodio de cinco genotipos provenientes del Banco de Germoplasma del INIFAT en la etapa de germinación y el crecimiento de las plántulas. Las semillas fueron germinadas en soluciones con cuatro niveles de salinidad (50, 100, 150 y 200 mM de NaCl). Se evaluaron indicadores como: longitud del hipocotilo, longitud de la raíz, altura de la planta, masa fresca y seca total. A partir de los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), se calcularon los porcentajes de inhibición y los Índices de Tolerancia Relativa de los genotipos. Utilizando el índice de estrés para cada concentración estudiada y los índices de susceptibilidad al estrés en 45 genotipos de frijol fue realizado un análisis de Conglomerado Jerárquico basado en la Distancia Euclidiana que permitió establecer agrupamientos de acuerdo al grado de tolerancia de los genotipos. Los resultados demostraron que existieron afectaciones en las variables evaluadas y un comportamiento diferenciado entre los genotipos, lo cual quedó evidente al evaluar el dendograma formado, el cual identificó cuatro agrupamientos de acuerdo al grado de tolerancia al NaCl. Diez genotipos (P-1074, P-662, P-790, P-1125, P-657, P-883, P-1185, P-908, P-75 y P-1101) mostraron marcadas características de tolerancia al estrés salino mientras otras seis fueron catalogadas como susceptibles.

Palabras clave: frijol, germinación, salinidad, tolerancia

Evaluation of salinity tolerance in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination and seedling growth

Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are sensitive to saline conditions and yield is reduced from an

electrical conductivity 2 dS.m⁻¹. Under these conditions, reflect a reduction the percentage of germination, growth and yields. In this research was evaluated la the physiological response to salinity induced with sodium chloride in five genotypes of Gene Bank of INIFAT in the germination and seedling plant. Seeds were growth under solutions at four salinity levels (50, 100, 150 y 200 mM de NaCl). Germination percentage, root and stem long, height plant and total wet and dry mass were evaluated. Using the results the ANOVA, inhibition percentages and Relative Tolerance Index of the genotypes were calculated. Using the stress index for concentration and susceptibility index of 45 bean genotypes was realized a cluster analysis of complete linkage based on Euclidian distance. The results evidenced the affectation of all variables evaluated and different behavior of varieties studied, evidenced using the cluster analysis, through which genotypes were classified in four different groups according to tolerance at NaCl. Ten genotypes (P-1074, P-662, P-790, P-1125, P-657, P-883, P-1185, P-908, P-75 y P-1101) showed marked tolerance characteristics to saline stress while others six genotypes were categorized as susceptible.

Keywords: bean, salinity, tolerance

T2.3 Potential ability of local banana cultivar 'Seenikese' to use as donor in genetic improvement of banana

U.M.Aruna Kumara^{1*}, Devika.M. De Costa²

¹Department of Postharvest Technology, University College of Anuradhapura, University of Vocational Technology Sri Lanka, Anuradhapura, Sri Lanka. *Seebu2003@yahoo.com

²Departments of Agricultural Biology, Faculty of Agriculture, University of Peradeniya, Peradeniya, Sri Lanka.

Banana is ranked as the fourth most important food crop used globally after rice, wheat and maize. Anthracnose, caused by *Colletotrichum musae* is an economically-significant postharvest disease of banana. Determination of genetic background of variation of anthracnose development in a banana cultivar which is relatively resistant to anthracnose would be helpful to identify disease resistant genes and utilize them in designing effective management measures

against anthracnose. Anthracnose lesion development on banana cultivars, 'Emban', 'Seenikese', 'Kolikuttu' and 'Alukese' which were inoculated with *C. musae* were observed. The area of anthracnose lesion development on the four banana cultivars at the 8th day after inoculation of *C. musae* highlighted that the highest area of lesion development was shown by cultivar 'Kolikuttu' and the lowest was shown by cultivars 'Alukese' and 'Seenikese'. Cultivar 'Alukese', a cooking-type and cultivar 'Seenikese', a dessert-type had no significant difference between each other in terms of area of anthracnose lesion development (p=0.05). Therefore, based on the area of lesion development, dessert-type cultivars 'Kolikuttu' and 'Seenikese' were determined to be the most susceptible and relatively-resistant to anthracnose development, respectively. Differentially-expressed genes in the relatively resistant cultivar due to *C. musae* infection were identified by differential hybridization. The up-regulated gene transcripts due to *C. musae* in cultivar 'Seenikese' were concerned the largest percentage of genes (i.e. 50 %) belonged to defense-related functions. The next highest majority of the genes (i.e. 18 %) belonged to stress responses-related genes. A reasonably higher percentage of genes (i.e. 12 %) belonged to energy and metabolism-related genes. However, exogenous application of JA as non-fungicidal treatment was more effective with fruits of cultivar 'Seenikese' which were already inoculated with the anthracnose pathogen, *C. musae*, in comparison to the similarly treated fruits of cultivar 'Kolikuttu' due to potential ability in cultivar 'Seenikese' to exogenous expression of defense related genes. Based on above information it was suggested that cultivar 'Seenikese' is a potential genotype in genetic improvement in banana in order to develop an anthracnose resistant banana cultivar with more economic importance to overcome anthracnose susceptibility in economically important local banana cultivar such as 'Kolikuttu'.

Keywords: Anthracnose, banana, cultivar, *C. musae*, defense related genes

T2.4 Caracterización de un ADNc parcial de ACC oxidasa de *Psidium guajava* L.

De la Luz-Monroy Aleyna*, Silos-Espino Héctor, Valera-Montero Luis, Flores-Benítez Silvia

Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes, México CP 20 330 itllano@hotmail.com / *aleyna.monroy@gmail.com

Se llevó a cabo la amplificación y un análisis bioinformático de un fragmento de ADNc (ACPG3) que codifica para la proteína ACC oxidasa (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidasa) obtenida a partir de un fruto maduro de guayaba (*Psidium guajava* L.) mediante TI-RCP (Transcripción inversa y Reacción en cadena de la polimerasa). La secuencia de nucleótidos de 724 pb, codifica para una proteína putativa de 239 aminoácidos, la cual muestra una similitud mayor al 90 % con ACC oxidasas de la misma especie y un 80 % con otras especies vegetales, reportadas en la base de datos. ACCPG3 contiene ocho residuos de aminoácidos y una región altamente conservada (familia dioxigenasa dependiente de Fe II y 2-oxoglutarato) presente en todas las ACC oxidasas. El dominio conservado contribuye a la formación de la mayoría de las partes del sitio activo de la enzima completa. Estos resultados representan un paso preliminar para aplicar tecnologías moleculares para el silenciamiento de genes con el propósito de controlar la maduración en frutos de guayaba y así minimizar costos postcosecha.

Palabras clave: ACC oxidasa, etileno, extracción de ARN, *Psidium guajava*, TI-RCP

Partial cDNA characterization of an ACC oxidase in *Psidium guajava* L.

Bioinformatics analysis and amplification of a partial cDNA fragment encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase (ACCPG3) from ripe guava (*Psidium guajava* L.) were performed by RT-PCR. The partial nucleotide sequence contains 724 pb, and encodes a fragment of a putative protein of 239 amino acid residues. The deduced amino acid sequence exhibited similarity to ACC oxidase proteins from the same species (90 %) and other plant species (80 %) reported in data base. ACCPG3 contains eight amino acids residues and a high conserved domain (2-oxoglutarate and Fe II dependent oxygenase superfamily) present in all ACC oxidasas. The conserved domain contributes most to the parts of the active site. The study represents a first step for gen silencing to control guava fruit ripening and reduce harvesting costs.

Keywords: ACC oxidase, ARN extraction, ethylene, *Psidium guajava*, RT-PCR

T2.5 Mitigation of salt stress by brassinosteroids in Chickpea

V.K.Gautam*, Nidhi Gautam

Department of Botany, *Deen Dayal Upadhyaya College and Daulat Ram college, Delhi University, Delhi, India. *vkgautam2001@gmail.com

Brassinosteroids (BRs) are ubiquitously occurring plant growth regulators which are assumed to function as a master switch in abiotic and biotic responses. Plants encounter various abiotic stresses like very high and low temperatures, UV irradiation, salt stress, heavy metal stress as well as many biotic factors such as pathogens and herbivores. Brassinosteroids by controlling gene expression and protein synthesis help plants to cope up with these stresses, as well help in their better growth and development and ultimately higher productions of desired products. Chickpea (*Cicer arietinum*, family Fabaceae) is an important pulse crop of India that is grown on a variety of soils with several stress factors. The present study was focused to evaluate the enhancing effects of 28 homobrassinolide (28homoBL) on seed germination, shoot and root growth, leaf formation and quantities of various photosynthetic pigments in the presence of different concentrations of common salt (NaCl). The 28homoBL was used at 10^{-4} to 10^{-10} M concentrations and NaCl was used at 5 to 15 ppm levels. Brassinosteroids alone mostly enhance growth under normal conditions as compared to control. However in the presence of salt, the response was lower though the supplementation of BR at 10^{-8} M concentration gave maximum response. In the present paper biosynthesis of BRs and their role in mitigating stress conditions in plants would be discussed.

Keywords: abiotic stresses, Chickpea, salt stress

T2.6 Un mapa del proteoma basado en tejido fotosintético de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) bajo el ataque del acaro verde (*Mononychellus tanajoa*)

Jaime Marín^{1,3,*}, Arturo Carabali², Hervé Vanderschuren³, James Montoya Lerma¹

¹Grupo Biorinoquia, Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías, Programa de Biología, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.
*Jmarin@unillanos.edu.co

²Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Palmira, Colombia.

³Department of Biology, Plant Biotechnology, ETH Zurich, Universitaetstrasse 2, 8092 Zurich, Switzerland.

⁴Grupo de Investigaciones Entomológicas, Departamento de Biología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

El ácaro verde, *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae), es una de las principales plagas de la yuca, causando daños directamente al chupar la savia. A pesar de que tiene una amplia distribución en América Latina, África y alto potencial para extenderse a Asia, Indonesia y Oceanía, hay muy poca información disponible para establecer un plan de manejo integrado de plagas. En consecuencia, los objetivos del presente estudio fueron: (1) cuantificar los efectos de los niveles de resistencia con bioensayos a libre y no libre escogencia para la preferencia de oviposición y (2) generar un mapa del proteoma del tejido fotosintética de yuca y analizar el ataque del ácaro verde utilizando proteómica cuantitativa en diez genotipos del banco de germoplasma de yuca. Se identificaron 5320 y 5490 proteínas únicas, de las hojas de yuca de los genotipos NAT31 y 60444, respectivamente. Además, alrededor de 300 y 1100 proteínas mostraron regulación significativa durante la interacción con el ácaro verde. Se identificaron proteínas moduladas en las vías asociadas con genes de defensa, el estrés oxidativo, la señalización, la biosíntesis y la modificación de la pared celular, el metabolismo secundario, fenilpropanoides, vías de defensa, proteólisis, factores de transcripción y genes de reconocimiento. Los análisis combinados de datos fenotípicos y proteómicos identificaron varias proteínas relacionadas con el mecanismo de defensa durante la interacción del ácaro verde de la yuca. Datos proteómicos cuantitativos de las vías de defensa y de fenilpropanoides indican genes candidatos adicionales para retrasar aún más el ataque del ácaro verde, estas están disponibles en www.pep2pro.ethz.ch para facilitar el acceso y la comparación con los datos de otros proteomas de yuca.

Palabras clave: ácaro verde, proteómica, yuca

A proteome map of a cassava (*Manihot esculenta* Crantz) photosynthetic tissue under the green mite attack

The green mite, *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae), is one of the main pests of cassava, causing damage directly by sucking the sap. Although it has a wide distribution in Latin America, Africa and high potential to extend to Asia, Indonesia and Oceania, very little information is available to establish an integrated pest management plan. Accordingly, the objectives of the present study were: (1) to quantify effects of the levels of resistance with non-free and free choice bioassays for oviposition preference and (2) to generate an extensive proteome map of cassava photosynthetic tissue and green mite attack proteome using label-free quantitative proteomics on ten genotypes at cassava germplasm bank. Over 5320 and 5490 unique proteins, were identified in the cassava leaf of genotypes NAT31 and 60444, respectively. In addition, around 300 and 1100 proteins showed significant abundance regulation during interaction with green mite. We identified protein abundance modulation in pathways associated with defense genes, oxidative stress, signaling, biosynthesis and modification of cell wall, secondary metabolism, proteolysis, transcription factors and genes of recognition. Based on combined phenotype and proteomics data, we identified several proteins related to defense mechanism during the cassava green mite interaction. Quantitative proteomics data from defense and phenylpropanoid pathways indicate additional gene candidates to further delay green mite attack. Cassava leaf proteomics data are available at www.pep2pro.ethz.ch for easy access and comparison with other proteomics data.

Keywords: cassava, green mite, proteomics

T2.7 Interspecific hybridization between sunflower and wild *Helianthus* species via immature embryo culture

Nazan Dağüstü*, Seda Özer

Uludağ University, Agricultural Faculty, Field Crops Department, 16384, Bursa, Turkey.
*ndagustu@uludag.edu.tr

Interspecific crosses were made between the 3 sunflower cytoplasmic male-sterile (CMS) lines (6388-A, 9661-A, 2517-A) and accessions of 11 wild *Helianthus* species [*H. argophyllus* (34, 35, 59), *H. petiolaris* (60), *H. petiolaris* subsp. *petiolaris* (54, 56, 57), *H. maximiliani* (45), *H. annuus* subsp. *lenticularis* (61), *H. annuus* (20, 22)]. Twelve-day-old hybrid embryos were excised and cultured *in vitro*. Interspecific hybrid embryos from different wild species showed distinct developmental potentials, the proportion of hybrid embryos in different developmental stages varying among species. Interspecific F1 plants could be raised with a recovery rate of 25.5 % altogether, 16 different hybrid combinations were examined only 6 of them produced plant and seed. Hybrids involving *H. annuus* (2), *H. argophyllus* (1) and CMS sunflower were difficult to obtain without embryo culture. Embryo culture proved to be a useful tool to overcome post-zygotic hybrid incompatibility in different *Helianthus* spp., and facilitated interspecific transfer of valuable characters into cultivated sunflower.

Keywords: *Helianthus* spp., immature embryo culture, interspecific hybridization, sunflower

T2.8 Efecto de la radiación gamma y la concentración de los fitorreguladores 2-4 D y kinetina en la respuesta androgénica, a partir del cultivo *in vitro* de anteras en papa criolla *Solanum tuberosum* L. Grupo Phureja (clon uno: Fedepapa)

Luis Armando Quevedo Cárdenas*, Diego Alexander Chipategua Español.

Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia. Apartado Aéreo 110311. *labbiologia@udistrital.edu.co

El programa de mejoramiento genético en papa diploide en Colombia se ha enfocado en desarrollar genotipos redondos amarillos con mayores períodos de dormancia, aptitud para consumo fresco y/o procesamiento, alto potencial de rendimiento y resistencia a *Phytophthora infestans*. El cultivo *in vitro* de anteras es una herramienta biotecnológica que posibilita obtener plantas haploides y Doble haploides (DH) en homocigocis total en tan solo una sola generación. Dichas plantas, constituyen una herramienta valiosa a la hora de fijar caracteres inducidos mediante mutaciones. El uso rutinario del cultivo *in vitro* de anteras en programas de

mejoramiento, ha tenido como principal obstáculo la evaluación de la respuesta androgénica entendida como la capacidad de regenerar plantas haploides a partir de anteras. Se evaluó el efecto del balance de los fitorreguladores 2-4 D - Kinetina y la radiación Gamma en dosis entre 25 Gy y 50 Gy sobre la capacidad androgénica, específicamente en la inducción de microcallo derivado de anteras. Las plantas donadoras de anteras corresponden al genotipo de papa criolla denominado *Clon uno: Fedepapa*. El diseño experimental para evaluación de respuesta androgénica corresponde a un Diseño Completamente Aleatorio (DCA). Sin embargo, el tiempo de inducción de estos, fue menor en contraste al material no irradiado. Entre tanto, la concentración de Fitorreguladores establecida en 1.0 mg l⁻¹ de 2-4 D y 0.5 mg l⁻¹ de Kinetina (KIN), generó mejor respuesta androgénica en el material no irradiado con un 0.6 % de callos inducidos. Por otro lado, la concentración de reguladores de crecimiento correspondiente a 1.0 mg l⁻¹ 2-4 D + 1.0 mg l⁻¹ Kinetina (KIN) presentó mejores resultados en el material irradiado, con un porcentaje de inducción de callo cercano al 0.4 % respecto al total de tratamientos.

Palabras clave: androgénesis, fitorreguladores, mutagénesis

Effect of the radiation gamma and the concentration of the phyto regulators 2-4 D and kinetin on the androgen response, starting from the culture *in vitro* of anthers in papa criolla *Solanum tuberosum* L. group phureja (clone one: Fedepapa)

The program of genetic improvement in diploid potato in Colombia has focused on developing genotypes round yellow with longer periods of dormancy, fitness for fresh consumption or processing, high potential yield and resistance to *Phytophthora infestans*. *In vitro* anthers culture is a biotechnological tool that makes it possible to obtain haploid plants and double haploids (DH) in total homocigocis in just a single generation. These plants are a valuable tool when it comes to fixed character induced mutations. The routine use of *in vitro* anthers culture in breeding programs, has had as main obstacle evaluation of response androgenic understood as the ability to regenerate haploid plants from anthers. It evaluated the effect of the balance of the phyto regulators 2-4 D - Kinetin and Gamma radiation in doses between 25 Gy and 50 Gy on androgenic capacity, specifically in the induction of

micro callus derived from anthers. Donors plants anthers correspond to Creole Potato called clone one genotype: *Fedepapa*. The experimental design for assessment of androgenic response corresponds to a design completely random DCA. He was established that gamma radiation had a negative effect on the response androgenic, specifically in the friability of the calluses obtained. However, the time of callus induction was lower in contrast to unirradiated material. In the meantime, the concentration of Phyto regulators established in 1.0 mg l^{-1} of 2-4 D and 0.5 mg l^{-1} of Kinetin (KIN), generated androgen responsive material not irradiated with a 0.6 % of callus of anther-derived. Otherwise, the concentration of regulators of growth of 1.0 mg l^{-1} de 2-4 D + 1.0 mg l^{-1} Kinetin (KIN) presented better results in the irradiated material, with a percentage of induction of callus close to 0.4 %, compared to the total number of treatments.

Keywords: androgenic, mutagenic, phyto regulators

T2.9 Estudio de fenotipos promisorios de tabaco negro resistente al moho azul, pata prieta y a la necrosis ambiental

Yoan Rodríguez Marrero*, Luisa A Pino Pérez, Mileidy Cabrera Esmory

Instituto de Investigaciones del Tabaco. Estación Experimental de Cabaiguan. Carretera Santa Lucía Km 2 ½. Cabaiguan. Sancti Spiritus. *genetica@eetcab.co.cu

En los últimos años, en las plantaciones tabacaleras el moho azul, la pata prieta y la necrosis ambiental se han convertido en las enfermedades más amenazadoras para el cultivo del tabaco en Cuba. En la UCTB Cabaiguan, provincia Sancti Spiritus, durante las campañas tabacaleras 2012-2013 y 2013-2014 se realizó una prueba de concursantes con cuatro líneas resultantes de un trabajo que se lleva a cabo en dicha estación y el testigo 'Sancti Spiritus-96', resistentes al moho azul y a la pata prieta con el objetivo de seleccionar una o más para la producción tabacalera de las provincias centrales y orientales del país. Se empleó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones y se midieron los caracteres: altura de la planta con inflorescencia, días para florecer, grosor del tallo, número de hojas botánicas y útiles, longitud y anchura máxima de la hoja

mayor, distancia de entrenudos, rendimiento agrícola y rendimiento en clases superiores en la selección del tabaco seco. Las líneas estudiadas presentaron características morfológicas superiores al testigo. En el valor de rendimiento total, clases de consumo y clases superiores las líneas 7 y 15 superaron significativamente a la variedad 'Sancti Spiritus-96'.

Palabras clave: genes, mejoramiento, moho azul, necrosis ambiental, pata prieta, resistencia

A comparative study among black tobacco lines resistant to blue mold, blackish paw and weather fleck

In the last years, in the tobacco plantations the blue mold, the black shank and the weather fleck have become the most lowering illnesses for tobacco cultivation in Cuba. In the UCTB Cabaiguan, Sancti Spiritus, province. With the objective of obtain one or more resistant cultivars for tobacco production in central and oriental provinces in Cuba, during the tobacco campaigns 2012-2013 and 2013-2014, it was carried out a test of comparative test with four promissory lines previously selected and the cultivar 'Sancti Spiritus-96', as witness, due to its proved resistance to blue mold and blackish paw. A random-blocks experimental design, with four repetitions, was used, and the measured characters were: plant height with the inflorescence, days to blossom, shaft diameter, number of botanical and useful leaves, length and maximum width of the biggest leaf, between knots distance, agricultural yield and superior classes yield during dry tobacco selection. The studied lines showed morphologic superior characteristic than the witness. In the total value yield, consumption classes and superior classes the lines 3 and 7 significantly overcame the variety 'Sancti Spiritus-96'.

Keywords: blackish paw, blue mold, genes, improvement, resistance, weather fleck

T2.10 Selección *in vitro* de regenerantes somaclonales de *Solanum betacea* cav. Sendt por su tolerancia al filtrado crudo de *Colletotricum acutatum* y su evaluación en vivero

Ángela Patricia Pérez Valbuena*, Rodrigo Hoyos Sánchez

Universidad Nacional de Colombia, Calle 59 A N 63-20, Medellín, Colombia. CP 050034
*apperezv@unal.edu.co, rhoyos@unal.edu.co

Mediante la selección *in vitro* se logró regenerar plántulas tolerantes al filtrado crudo de *Colletotrichum acutatum* de tres ecotipos de tomate de árbol (TAR) (TAC) y TAA) rojo, común y amarillo respectivamente. La regeneración se logró a partir de tejido foliar como explantes en un medio de cultivo con las sales básicas MS (Murashige y Skoog 1962) y vitaminas complementadas con 20 g l⁻¹ de azúcar, 0.01 mg l⁻¹ de IAA, 0.025 mg l⁻¹ de IBA, 0.01 mg l⁻¹ de GA₃ y 0.05 mg l⁻¹ de BAP. El hongo *C. acutatum* se cultivó en un medio de cultivo líquido con las sales básicas MS y vitaminas sin hormonas vegetales de donde se obtuvo el filtrado crudo. La Aplicación de filtrado crudo a los explantes foliares se llevó a cabo en cinco tratamientos: 75 %, 50 %, 25 %, 12.5 % y 0 % v/v con el medio de cultivo, suplementado con 2 mg l⁻¹ de BAP. De los regenerantes obtenidos, se realizaron extracciones de rebrotes adventicios y micropropagación como material parental con potencial tolerancia al filtrado crudo *in vitro*. Mediante la prueba de Milton Friedman para estadística no paramétrica, se reportaron diferencias significativas entre los tratamientos para los tres ecotipos con un nivel de significancia de 0.05, por lo cual se evidencia el efecto del filtrado crudo sobre la formación de rebrotes. En condiciones de vivero, se encontró que los regenerantes somaclonales del ecotipo TAR mantienen su grado de tolerancia al filtrado crudo del hongo, reportando diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia de 0.05. Para los análisis estadísticos se utilizó el programa R (R Core Team, 2015). Se concluye que el protocolo de selección *in vitro* puede generar materiales parentales para programas de fitomejoramiento de tomate de árbol.

Palabras clave: antracnosis, fitotoxinas, regeneración de plantas, selección *in vitro*, tomate de árbol

***In vitro* selection of somaclonal regenerants of *Solanum betacea* cav. Sendt for its tolerance to crude filtrate of *Colletotrichum acutatum* and its evaluation in nursery conditions**

Using the *in vitro* selection method, the team was able to successfully regenerate plantlets from three ecotypes of three varieties of tree tomato; red (TAR), common (TAC) and yellow (TAA), that were tolerant to the action of the *Colletotrichum*

acutatum crude filtrate. Regeneration was achieved by putting leaf tissue explants in a culture medium with basal salts and vitamins of MS (Murashige and Skoog 1962) supplemented with 20 g l⁻¹ sugar, 0.01 mg l⁻¹ of IAA, 0.025 mg l⁻¹ of IBA, 0.01 mg l⁻¹ of GA₃ and 0.05 mg l⁻¹ of BAP. The crude filtrate was obtained from the fungus *C. acutatum*, cultured in a liquid medium with the basal salts and vitamins of MS without plant hormones. The Application of the crude filtrate to explant foliage was carried out in five treatments: 75 %, 50 %, 25 %, 12.5 % and 0 % v / v of the culture medium supplemented with 2 mg l⁻¹ BAP. Of those explants that regenerated shoots *in vitro*, extraction of shoots and adventitious buds was done to be multiplied as parental individuals potentially tolerant to crude filtrate. By Milton Friedman test for non-parametric statistics, significant differences between treatments for the three ecotypes with a significance level of 0.05 was reported, so the effect of the crude filtrate is evidence for the shoot regeneration. In nursery conditions it was found somaclonal regenerants of the TAR ecotype maintain its degree of tolerance to fungal crude filtrate, reporting significant differences between treatments with a significance level of 0.05. R statistical software (R core team, 2015) was used for statistical analysis. It is concluded that *in vitro* selection protocol can be generate parent materials for tree tomato breeding programs.

Keywords: anthracnose, *in vitro* selection, phytotoxins, plant regeneration, tree tomato

T2.11 Selección por resistencia a tetraciclina como un sistema de selección para transformación genética de plantas

Ana Mayanga-Herrera, Guy A. Cardineau*

Centro de Agrobiotecnología/Centro de Biotecnología Escuela Nacional de Posgrado en Ciencias Ingeniería y Tecnologías. Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey. Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México. *guy.cardineau@itesm.mx

Tradicionalmente se ha incluido un paso de selección en el proceso de obtención de plantas transgénicas. Este paso es importante para seleccionar aquellas plantas que han integrado un gen de interés, mientras que inhibe el crecimiento de aquellas plantas no transformadas. Se han usado varios sistemas para seleccionar plantas

transgénicas, los más comúnmente usados son aquellos que usan antibióticos como kanamicina o higromicina y el herbicida fosfinotricina. El objetivo principal de este trabajo fue usar un nuevo sistema de selección basado en resistencia a tetraciclina como marcador de selección. El gen *tetX*, que codifica una oxido-reductasa que requiere NADP e hidroxila un amplio espectro de sustratos de tetraciclina, fue optimizado para su expresión en plantas y sintetizado. El plásmido pUC57 que contenía al gen *tetX* fue digerido usando las enzimas NcoI and SacI para retirar el gen e insertarlo en un plásmido conteniendo el promotor CAMV25S. Posteriormente, el gen *tetX* con la región promotora del CaMV35S fue digerido con las enzimas SacI y HindIII e insertado en un plásmido binario. El nuevo plásmido binario, p35S *tetX* bin, fue usado para transformar las cepas AGL1 y EHA 105 de *Agrobacterium tumefaciens*. Para evaluar la resistencia a tetraciclina se usaron explantes de *Capsicum annuum* var. glabriusculum y *Nicotiana benthamiana* los cuales fueron transformadas usando *Agrobacterium tumefaciens*. A pesar de que la resistencia a tetraciclina fue el primer medio de selección usado en la modificación genética de bacterias en los 70's, esta tenía limitaciones ya que originalmente no era adaptable para ser usada en Eucariotas. Recientemente, se ha mostrado al gen *tetX* como un potencial marcador de selección en sistemas de órdenes mayores. Este reporte es el primer ensayo para selección de plantas por resistencia a tetraciclina y creemos que esto podría ser una alternativa accesible para la selección de plantas transgénicas.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, gen *tetX*, marcador de selección, *Nicotiana benthamiana*, tetraciclina

Tetracycline resistance selection as a selection system for plant genetic transformation

A selection step has been traditionally used in the process of generating transgenic plants. This step is important to select those plants that have integrated a gene of interest while inhibiting the growth of non-transformed plants. Many selection systems have been used for selecting transgenic plants; the most commonly used ones are antibiotics such as kanamycin or hygromycin and the herbicide phosphinothricin. The main objective of this study was to use a novel selection system based on tetracycline resistance as a selectable

marker. A *tetX* gene, encoding NADP- requiring oxidoreductase that hydroxylates a broad spectrum of tetracycline substrates, was optimized for expression in plants and synthesized. pUC57 plasmid containing *tetX* gene was digested using NcoI and SacI restriction enzymes. *tetX* gene was then inserted into a plasmid containing the CaMV35S promoter and subsequently digested with SacI and HindIII enzymes for its insertion into a binary plasmid. The new binary plasmid, p35S *tetX* bin, was used to transform *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 and EHA 105 strains. *Capsicum annuum* var. glabriusculum and *Nicotiana benthamiana* explants were used as plant models for *Agrobacterium*-mediated transformation and tetracycline resistance evaluation. Tetracycline resistance was the first means of selection used in genetic modification of bacteria in the early 1970's. However, it had limitations and was not originally adaptable for use in Eukaryotes. The *tetX* gene has recently been reported for potential tetracycline resistance selection in higher order systems. This report is the first assay for tetracycline resistance selection in plants and we believe that this could be an affordable alternative for transgenic plants selection.

Keywords: *Capsicum annuum*, *Nicotiana benthamiana*, selectable marker, tetracycline, *tetX* gene

T2.12 Empleo de rayos gamma de ⁶⁰Co para obtención de mutantes de frijol tolerantes a las altas temperaturas

María Caridad González Cepero^{1*}, Danelis Reyes¹, Mario Varela¹, Dayné Horta¹, Rodolfo Guillama¹, Armando Chávez²

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Carretera de San José –Tapaste km 3 ½, Mayabeque, La Habana. *mcaridad@inca.edu.cu

²Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN).

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas se desarrolló un trabajo investigativo encaminado a la obtención de mutantes de frijol tolerantes a las altas temperaturas, para lo cual se irradiaron semillas de la variedad de frijol 'BAT-93' con rayos gamma de ⁶⁰Co. Se determinó la radiosensibilidad de la misma y se realizó la selección individual durante tres generaciones (M₂, M₄ y M₅ en

condiciones de altas temperaturas (siembra de junio). Así mismo se determinó el efecto de las altas temperaturas sobre la viabilidad del polen, la termoestabilidad de la membrana celular, la actividad peroxidasa, catalasa y proteínas solubles totales para identificar posibles indicadores para la selección. Se realizó la comparación de tres líneas seleccionadas con la variedad donante 'BAT-93' en condiciones de altas temperaturas a partir de la evaluación de la viabilidad del polen, el número de vainas por planta, el número de granos por planta y el rendimiento por planta. Las líneas seleccionadas superaron a la variedad donante en la viabilidad del polen, el número de vainas por planta, el número de granos por planta y el rendimiento lo que demuestra una vez más la factibilidad de empleo de la inducción de mutaciones para generar variabilidad genética y obtener genotipos con mejor comportamiento ante los efectos del cambio climático.

Palabras clave: calor, frijol, mutación, radiaciones, selección

Employment ^{60}Co . gamma mutants for obtaining high temperature tolerant bean

At the National Institute of Agricultural Sciences, a research work aimed at obtaining mutants bean tolerant to high temperatures, for which seeds of bean variety BAT-93 with ^{60}Co gamma rays were irradiated developed. Radiosensitivity was determined and individual selection was performed for three generations (M_2 , M_4 and M_5 in high temperature conditions (sowing June). The effect of high temperatures on pollen viability was also determined, thermostability cell membrane, peroxidase activity, catalase and total soluble proteins to identify potential indicators for selection. Comparison of three selected lines with the donor variety BAT-93 in high temperature conditions from the evaluation of pollen viability lines, the number of pods per plant, number of grains per plant and yield per plant was performed. Selected lines outperformed the donor variety in the pollen viability, the number of pods per plant, number of grains per plant and the yield which demonstrates once again the feasibility of using mutation induction to generate genetic variability and obtain genotypes with better performance to the effects of climate change.

Keywords: beans, heat, mutation, radiation, selection

T2.13 Efectos morfológicos inducidos en berenjena (*Solanum melongena* L.) por la aplicación de un rango de dosis de radiación gamma

Luis Armando Quevedo* Camilo Esteban Flautero, Juan David Romero

Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia. Apartado aéreo 110311. *labbiologia@udistrital.edu.co

El programa Colombiano de fitomejoramiento para berenjena (*Solanum melongena* L.) se ha enfocado en la caracterización de líneas con potencial agronómico y en la selección dirigida de atributos ancestrales favorables a partir de genotipos criollos. Obtener plantas con un mayor rendimiento, bajo porte y frutos tipo exportación son objetivos que se constituyen en líneas de trabajo dentro de dicho programa. En este contexto el uso de mutágenos resulta ser una opción viable cuando se busca la expresión de caracteres no existentes en la naturaleza o que se han perdido durante la evolución y puedan ser de interés agronómico. Con el ánimo de evaluar la radiosensibilidad en las variedades 'CO015 y PH10', sus semillas fueron expuestas a dosis agudas de radiación gamma en un rango entre 0 y 600 Gy, utilizando como fuente ^{60}Co . Posteriormente se indujo el crecimiento bajo condiciones controladas en un diseño completamente aleatorizado, para poder comparar la incidencia de los tratamientos en las plántulas evaluando cinco respuestas: altura, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, el largo y el ancho de la lámina foliar durante el primer mes de crecimiento. Se comprobó que no existen diferencias significativas en la respuesta de la altura entre las variedades estudiadas, reportando entonces la LD_{50} sobre los 400 Gy para ambos genotipos. El análisis estadístico permitió determinar que hay diferencias significativas entre los seis tratamientos aplicados y los controles en las respuestas de altura, porcentaje germinación, ancho y largo de la lámina foliar. Evidenciamos también que CO015 presenta mayor grado de radiosensibilidad que 'PH10'. Como conclusión se sugiere utilizar dosis agudas entre los 280 y 370 Gy para obtener una reducción entre el 30 % y el 50 % del porte de la planta, esto para contribuir al mejoramiento de las variedades y optimizar su aplicación en futuros trabajos que involucren irradiaciones masivas.

Palabras clave: berenjena, ^{60}Co balto, dosimetría, mutagénesis

Morphological effects induced in eggplant (*Solanum melongena* L.) by the treatment with gamma dose range

The Colombian breeding program for eggplant (*Solanum melongena* L.) has focused on characterizing lines with agronomic potential and targeted selection of favorable ancestral attributes from Creole genotypes. Obtain plants with higher yield, low height and type fruit exports are objectives that constitute lines of work within the program. In this context, the use of mutagens turns out to be a viable option when looking for the expression of non-existent characters in nature or that have been lost during evolution and may be of agronomic interest. In an effort to evaluate the radiosensitivity in 'PH10' and 'CO015' varieties, seeds exposed to acute doses of gamma radiation in the range between 0 and 600 Gy, using as a source ^{60}Co . Later growth induced under controlled conditions in a completely randomized design to compare the impact of treatments on seedlings evaluating five responses induced during the first month of growth: height, germination percentage, emergence percentage, the length and width of the leaf. No significant differences found in the response of the height between the varieties studied, then reporting the LD₅₀ above 400 Gy for both genotypes. Statistical analysis revealed that there are significant differences among the six treatments applied and controls in response height, percentage germination, length and width of the leaf blade. Is remarkable that 'CO015' has shown greater radiosensitivity to 'PH10'. In conclusion, we suggest using acute doses between 280 and 370 Gy for a reduction between 30 % and 50 % of plant height, which contribute to the improvement of varieties and optimize used in future work involving massive radiation.

Keywords: ^{60}Co balt, dosimetry, eggplant, mutation breeding

T2.14 Control de la producción de poliaminas de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus flavus* en maíz mediante RNA antisentido

Rivas-Aviles Israel David, Ruiz-Medrano Roberto, Moya-Hinojosa Jesús, García-Ávila Clemente De Jesús, Xoconostle-Cázares Beatriz*

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, 07360 Ciudad de México.
http://www.biotecnologia.cinvestav.mx/
*bxoconos@cinvestav.mx

El maíz es uno de los cereales de mayor producción a nivel mundial que ha tenido un gran impacto socioeconómico de muchos países. Como producto alimenticio el maíz contiene un gran índice calórico gracias a su alto contenido de almidón, y aunque no contiene mucho de los nutrientes esenciales, es la principal fuente de alimento de muchas países; convirtiéndolo en un excelente medio de fortificación para combatir problemas alimenticios. La infestación por *Aspergillus* sp. en los cultivos de maíz representa no solamente un riesgo económico (reflejado en las pérdidas en campo-almacén) sino un riesgo sanitario. Los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* producen un tipo de micotoxinas denominadas aflatoxinas. Estas micotoxinas tienen un amplio espectro toxigénico (la IARC las ha designado como un carcinógeno hepático), y ser secretados en la leche materna una vez ingeridos. Debido al riesgo que representan, la FAO ha reportado que más de 40 países han establecido medidas regulatorias para los niveles en alimentos. La síntesis de aflatoxinas se asocia con el proceso de esporulación que junto con otros procesos celulares se encuentran afectados por los niveles de poliaminas. La síntesis de poliaminas en *Aspergillus* comienza con la descarboxilación de ornitina por la enzima ornitina descarboxilasa. La ornitina descarboxilasa ha sido blanco de silenciamiento post-transcripcional en hongo mediante RNA interferente por varios grupos de investigadores, donde reportan alteración en el desarrollo celular. El objetivo de este trabajo es crear una línea de maíz transgénico que exprese una región antisentido contra la ornitina descarboxilasa de *Aspergillus flavus* para alterar su desarrollo diferencial. Se han diseñado dos construcciones para la expresión de la región antisentido, y se ha transformado coleoptilo de maíz. Las plantas transgénicas se han comprobado hasta el momento mediante resistencia a glufosinato de amonio y PCR punto final.

Palabras clave: aflatoxinas, *Aspergillus*, iRNA, maíz, ODC

***Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* polyamines production control mediated by RNA antisense**

Maize is currently one of the main staples produced worldwide that has impact the socioeconomic status of many countries. As foodstuff, maize provides a great caloric intake provided by his high content of starch, and in spite of not having lots of essential nutrients, it is one of the major food sources of many countries; this make one excellent mean for combating undernourishment. Maize crops infestation by *Aspergillus sp.* represents not only an economic liability (reflected in field-storehouse losses) but also a health risk. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* produce mycotoxins called aflatoxins. This mycotoxins have a wide toxigenic spectrum (the IARC has designate them as liver carcinogen), and can be secreted in breastmilk after ingestion. Because of the risk they represent, FAO has reported that over 40 countries had established regulation levels in food products. Aflatoxin synthesis has been associated with sporulation process that together with other cellular process they are affected by polyamines levels. The polyamines synthesis in *Aspergillus* starts with ornithine decarboxylation by the ornithine decarboxylase. Ornithine decarboxylase has been targeted by post-transcriptional silencing in fungus mediated by interference RNA in several reports, where alteration in cellular development has been documented. The objective of this work is to produce a transgenic maize line that express an antisense region against ornithine decarboxylase of *Aspergillus flavus* to alter his differential development. We have designed two constructs for the expression of the antisense region, and we have transform maize coleoptile. The transgenic plants have been selected for the time being by ammonium glufosinate resistance and end point PCR.

Keywords: aflatoxins, *Aspergillus*, iRNA, maize, ODC

T2.15 Análisis metagenómico de comunidades microbianas de la rizósfera de árboles de limón genéticamente modificados

Martín Eduardo Sánchez-García, Beatriz Xoconostle-Cázares*, Jaime García-Mena, Roberto Ruiz-Medrano, Jesús Hinojosa-Mora

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Delegación Gustavo A. Madero, San Pedro Zacatenco, 07360 Ciudad de México, D.F. <http://www.biotecnologia.cinvestav.mx/> *bxoconos@cinvestav.mx

Frente al reto del campo para abastecer de insumos a la población, los organismos genéticamente modificados se perfilan como una solución alternativa. Estos se obtienen a partir de la manipulación de genes que permiten reducir el efecto de factores de estrés biótico y abiótico en plantas con lo que se busca mejorar la producción. La baja eficiencia de los métodos convencionales para el control de la enfermedad de cítricos Huanglongbing, causado por la bacteria *Candidatus liberibacter*, pone en riesgo la producción de cítricos en México y a nivel mundial, lo que ha llevado a nuestro laboratorio al desarrollo de variedades resistentes que expresan antimicrobianos (Defensina y lisozima). Considerando el papel fundamental de los microorganismos en la calidad del suelo y salud y productividad de plantas junto con la capacidad de estas para modificar la estructura de las poblaciones microbianas en la rizósfera, se han comenzado a publicar estudios sobre la posible influencia de plantas GM en la estructura y abundancia de comunidades de microorganismos. Para garantizar la inocuidad de los árboles de limón con expresión de antimicrobianos en las comunidades del suelo, se establece una plantación experimental a partir de la cual se evalúa la microbiota de la rizósfera de árboles transgénicos e isogénicos en un periodo de tres meses. La identificación de los microorganismos se llevó a cabo por secuenciación masiva del gen 18S y de la región hipervariable V3 del gen 16S. El análisis y comparación de las poblaciones resultantes de los diferentes tratamientos muestra que no hay una influencia del transgen en el desarrollo de las comunidades. En base al análisis de similitud, el factor que parece más determinante es el tiempo, lo que parecería un proceso natural de selección alrededor de la raíz.

Palabras clave: antimicrobianos, metagenómica, microbioma, rizósfera, transgénicos

Metagenomic analysis of microbial communities in the rhizosphere of genetic modified citrus tree

Facing the challenge of the field to supply inputs to population, genetically modified organisms emerged as an alternate solution. They are made through manipulation of genes which allow to reduce the effect of biotic and abiotic stress with the proposed to get an increase in production. In Mexico, low efficiency of conventional treatments to control a citrus illness Huanglongbing, caused for the bacteria *Candidatus liberibacter*, keeps in risk the wellbeing of producer citrus communities. Therefore it has been developed in our group resistant citrus varieties through the expression of antimicrobials (Defensin and Lysozyme). Taking into account the essential role of microorganisms in the soil quality, plant health and productivity and considering the plant capability to shape the structure of microbial soil population, researches about the possible influence of GM plants in the structure and abundance of microorganisms have started to be published. To guarantee the safety of the employ of GM citrus expressing antimicrobials in the soil communities, it was set an experimental crop where was evaluated the microbiota in the rhizosphere of transgenic and isogenic lines along three months. The identification of microorganisms was performed with throughput sequencing of the 18S gene and the hypervariable region V3 from 16S gene. The analysis and comparison of resulting populations between treatments, don't reveal an influence in the development of the communities because the presence of the transgene. Based on the dissimilarity assay, the factor which seems to be the most determinant in the shaped of communities is the time, own to a natural selection process around the root.

Keywords: antimicrobials, metagenomic, rhizosphere, transgenic

T2.16 Contenido de clorofila en caña de azúcar *in vitro* sometida a estrés hídrico

Odón Castañeda-Castro^{1*}, Miriam Cristina Pastelín-Solano¹, LA Solano-Rodríguez², Marina Guevara-Valencia¹

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas. Prolongación de Oriente 6 No. 1009, Orizaba, Veracruz. CP 94 340.
*odcastaneda@uv.mx, mpastelin@uv.mx

²Producción Genética Agropecuaria de México. Av. 3 No. 903. Córdoba Ver. CP 94 500.
*genetica.agropecuaria@gmail.com

La caña de azúcar aporta el 75 % del azúcar total producido en el mundo. El cambio climático es una amenaza fundamental para la seguridad alimentaria mundial. El estrés por sequía constituye la principal causa de pérdidas en el rendimiento de los cultivos (Vinocur y Altman, 2005). El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto que tiene el estrés hídrico sobre el desarrollo de plantas cultivadas *in vitro* de caña de azúcar variedades 'Mex 69-290' y 'CP 72-2086'. El estrés hídrico fue inducido por la adición de polietilenglicol 6 000 al medio de cultivo MS en concentraciones de 0, 3, 6 y 9 % que corresponden a -0.45, -0.50, -0.65 y -0.80 MPa de PO. Cada uno de los niveles de PEG 6 000 tuvo 3 repeticiones, siendo la unidad experimental un frasco conteniendo cinco plantas *in vitro*. Después de 30 días de tratamiento, se cuantificó el contenido de clorofila a, b y total por el método de Harborne (1973), número de brotes y hojas. Se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey, 0.05). Por efecto del factor variedad, la variedad 'CP 72-2086' presentó contenidos más altos de clorofila con respecto a la variedad 'Mex 69-290'. En todos los casos, el contenido de clorofila disminuyó al ser más negativo el Potencial Osmótico. El número de brotes y hojas no es afectado al inducir las plantas al estrés hídrico. El número de hojas disminuye en la variedad 'Mex 69-290' al ser más negativo. Se concluye que la concentración de PEG 6 000 al 3, 6 y 9 %, en plantas de caña de azúcar cultivadas *in vitro*, influye de forma similar entre las variedades, siendo la variedad 'Mex 69-290' la más afectada.

Palabras clave: estrés osmótico, polietilenglicol, *Saccharum*

Chlorophyll contained in sugar cane *in vitro* under hydric stress

Sugar cane provides 75 % of the total sugar produced in the world. Climate change is a major threat to global food security. The stress caused by droughts is the main cause of losses in crop yields (Vinocur and Altman, 2005). The objective of this investigation was to analyze the effect of water stress on the development of plants cultivated *in vitro* of sugar cane varieties 'Mex 69-290' and 'CP 72-2086'. The water stress was induced by the addition of polyethylene glycol 6 000 to medium MS (Murashige and Skoog, 1962) at concentrations of 0, 3, 6 and 9 % that correspond to -0.45, -0.50, -0.65 and -0.80 MPa of PO. Each one of the levels of PEG 6 000 had 3

repetitions, being the experimental unit a bottle containing 5 *in vitro* plants. After 30 days of treatment, it was quantified the contents of chlorophyll a, b and total by the method of Harborne (1973), number of sprouts and leaves. An analysis of variance was done and test for comparison of means (Tukey, 0.05). The effect of factor variety, the variety 'CP 72-2086' presented higher levels of chlorophyll with regard to the variety 'Mex 69-290'. In all cases, the chlorophyll content declined to be more of negative osmotic potential. The number of sprouts and leaves is not affected by inducing plants to water stress. The number of blades decreases in the variety 'Mex 69-290' to be more negative. It is concluded that the concentration of PEG 6 000 to 3, 6 and 9 % in sugar cane plants cultivated *in vitro*, has a similar between the varieties, being the variety 'Mex 69-290' the most affected.

Keywords: osmotic stress, polyethylene glycol, *Saccharum*

T2.17 Selección asistida por marcadores moleculares AFLP para estrés abióticos en caña de azúcar en Cuba

Ana L. Calvo, Héctor García*, María T. Cornide, Ibis Jorge

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Carretera CUJAE Km. 1½, Boyeros, La Habana, Cuba. *hectorgp@inica.azcuba.cu

En Cuba después del reordenamiento de la producción azucarera, no ha podido prescindirse totalmente de zonas donde están presentes estrés abióticos por sequía y mal drenaje (29 % y 24 % del área respectivamente). Recientemente junto al Programa de Mejora convencional, se han utilizado las ventajas que ofrece la selección asistida por marcadores moleculares. Con el objetivo de determinar los fondos de diversidad genética y los patrones para su identificación, se usaron marcadores moleculares AFLP, en una muestra de 16 cultivares de respuesta a la sequía y mal drenaje, conocida a través de sus modelos de estabilidad y adaptabilidad a esas condiciones. Según el análisis de conglomerados se evidenció la presencia de al menos dos grupos de diversidad molecular coincidentes con las respuestas susceptible y tolerante al estrés por mal drenaje, no así para la respuesta a la sequía.

Palabras clave: AFLP, caña de azúcar, estrés abiótico, selección asistida

Assisted selection by molecular markers AFLP for abiotic stress in sugarcane in Cuba

After the reorganization of the sugar cane production in Cuba, it has been impossible to omit areas with abiotic stress (drought and bad draining whit 29 % and 24 % of the total area respectively). Recently, and joined to the Conventional Improvement Program it has been used the advantages of the assisted selection by molecular markers. There were used molecular markers AFLP with the objective of determining the funds of genetic diversity and the patrons for its identification, in a sample of 16 crops with reply to the drought and bad draining, known through its stability models and its adaptability to those conditions. According to the Conglomerates Analysis, it was evident the presence of at least two groups of molecular diversity that coincide to the sensitive and tolerant answers to stress due to bad draining. Not evident, on the other hand, in the answer to drought.

Keywords: abiotic stress, AFLP, assisted selection, sugar cane

T2.18 Estudios de radiosensibilidad en suspensiones celulares embrionógicas de banano cv. 'Grande naine' (*Musa* sp. AAA)

Idalmis Bermúdez-Carabaloso*, Rafael Gómez Kosky, Borys Chong Pérez, Maritza Reyes Vega, Mayelin Rodríguez Urquiza, Leonardo Rivero

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *idalmis@ibp.co.cu

Se ha referido el uso de la mutagénesis *in vitro* en varios cultivos con resultados satisfactorios. La embriogénesis somática es un excelente sistema para la propagación clonal y la inducción de mutaciones. Con el objetivo de desarrollar los estudios de radiosensibilidad de suspensiones celulares embrionógicas de banano cv. 'Grande naine' con el empleo de radiaciones gamma fuente ^{60}Co , se estudiaron diferentes dosis de radiación (0, 30, 40, 50, 60, 70 y 80 Gy). Los resultados mostraron que el indicador masa fresca de los embriones somáticos formados no logró diferencias entre las dosis de radiación

estudiadas y el control por lo que este parámetro no se debe tener en cuenta para determinar la DL_{50} al utilizar como material vegetal suspensiones celulares embriogénicas de banano. La DL_{50} en la formación de embriones somáticos se encontró en la dosis de 40 Gy con el 51.6 % de embriones somáticos formados. Con la dosis inferior de 30 Gy se observó un ligero aumento en el porcentaje de embriones somáticos formados, pero sin diferencias significativas con el control sin irradiar. Teniendo en cuenta el valor de la DL_{50} en la formación y germinación de los embriones somáticos y su posterior aclimatización, solo el 55 % de las plantas lograron sobrevivir con la dosis de 40 Gy. Con las dosis de radiación a partir de los 50 Gy prácticamente menos del 15 % de las plantas logró sobrevivir a los 60 días. En general, la frecuencia de mutaciones se incrementó con la dosis de radiación aplicada hasta los 50 Gy.

Palabras clave: DL_{50} , dosis de radiación, embrión somático, mutagénesis *in vitro*, radiaciones gamma

Studies radiosensitivity in embryogenic cell suspensions of banana cv. 'Grande naine' (*Musa* spp. AAA)

It has referred to use *in vitro* mutagenesis in various crops with satisfactory results. Somatic embryogenesis is an excellent system for clonal propagation and mutation induction. With the aim of developing studies radiosensitivity of banana embryogenic cell suspensions cv. 'Grande naine' employment Source ^{60}Co gamma radiation, different radiation doses (0, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 Gy) were studied. The results showed that the fresh mass of somatic embryos formed indicator failed to differences between radiation doses studied and control so this parameter must not be taken into account in determining the LD_{50} to be used as plant material embryogenic banana cell suspensions. LD_{50} in the formation of somatic embryos was found in the dose of 40 Gy to 51.6 % of somatic embryos formed. With the lower dose of 30 Gy a slight increase in the percentage of somatic embryos formed was observed, but no significant differences with the control without irradiation. Given the LD_{50} value in the formation and germination of somatic embryos and subsequent acclimatization, only 55 % of the plants survived a dose of 40 Gy. With radiation doses from 50 Gy virtually less than 15 % of the plants survived 60 days. In general, the frequency

of mutations increased with radiation dose to 50 Gy.

Keywords: gamma radiation, *in vitro* mutagenesis, LD_{50} , radiation dose, somatic embryo

T2.19 Respuesta de los cultivares de *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB), al estrés salino inducido con diferentes concentraciones de NaCl en fase de aclimatización

Leonardo Julio Moreno-Bermúdez^{1*}, Lucía Sandra Pérez-Borroto², Rafael Gómez-Kosky¹, Ángel Mollineda Trujillo³, Borys Chong-Pérez¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara, Villa Clara. CP 54 830, Cuba. *ljmoreno@ibp.co.cu

²Laboratorio de Agrobiología. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez". Carretera a Morón Km 9 1/2. Ciego de Ávila. CP 69 450. Cuba.

³Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas.

Los plátanos y bananos son cultivos tropicales y subtropicales a los cuales les afecta el déficit hídrico, ocasionado bien por sequía o por salinidad. Se prevé que para las próximas décadas el nivel medio del mar se incremente; esto traería consigo la salinización de suelos agrícolas y fuentes de agua dulce destinadas al riego. Ante tal situación se hace necesario contar con cultivares de plátanos y bananos que toleren la salinidad. Las técnicas biotecnológicas permiten la obtención de genotipos tolerantes, que antes de ser probados en campo pueden ser previamente seleccionados tanto en la etapa de cultivo *in vitro*, como en fase de aclimatización. Para lo anterior es necesario primeramente establecer una metodología de selección teniendo en cuenta cultivares tolerantes y susceptibles, y variables indicadoras de tolerancia. El objetivo del presente trabajo fue determinar la respuesta al estrés salino inducido con NaCl en los cultivares de *Musa*. 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB) en fase de aclimatización. Se determinaron, en plantas sometidas a diferentes concentraciones de NaCl, variables fisiológicas (niveles de clorosis y necrosis en hojas, y contenido de clorofilas totales) y bioquímicas (contenido de prolina,

malondialdehído y peróxido de hidrógeno) indicadoras de estrés. Las plantas del cultivar 'Grande naine' presentaron mayor afectación que las del cultivar 'Pelipita' en todos los indicadores analizados, excepto en el contenido de clorofilas. Ambos cultivares mostraron un incremento en el número de hojas cloróticas y necróticas, contenido de clorofilas, prolina, peróxido de hidrógeno y malondialdehído ante mayores concentraciones de NaCl en el suelo. Teniendo en cuenta estos resultados, el uso del NaCl como agente inductor de estrés salino, y la determinación de las variables empleadas en este estudio, podrían constituir una metodología para la selección temprana en fase de aclimatización de plantas de *Musa* tolerantes a la salinidad.

Palabras clave: fase de aclimatización, Grande naine, *Musa*, NaCl, salinidad

Response of *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) cultivars, to salt stress induced with different NaCl concentrations in acclimatization phase

Bananas and plantains are tropical and subtropical crops affected by water stress, caused either by drought or salinity. It is expected that the next few decades the average sea level increases; this would result in salinization of agricultural land, and fresh water sources for irrigation. As a consequence of that it is necessary to have tolerant banana and plantain cultivars to salinity. Biotechnological techniques allow obtaining tolerant genotypes, before being tested in the field they can be pre-selected both, during *in vitro* culture, and in green house conditions. Because of that, it is necessary to establish a methodology to select tolerance indicators traits considering tolerant and susceptible cultivars. The aim of this study was to determine the response to salt stress induced with NaCl, in 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) *Musa* cultivars in green house. Several indicators of stress were determined, [Physiological (chlorosis and necrosis levels in leaves, and total chlorophyll content) and biochemical (proline content, malondialdehyde and hydrogen peroxide)], in plants subjected to several NaCl concentrations. Plants of 'Grande naine' showed greater affectations than 'Pelipita' in all analyzed indicators, except chlorophyll content. Both cultivars showed an increase in the number of chlorotic and necrotic leaves, chlorophyll, proline, hydrogen peroxide and malondialdehyde content, when NaCl concentrations in the soil were increased. Given

these results, the use of NaCl as salt stress inducing agent, and determining the variables used in this study, could constitute a methodology for early selection of tolerant plants to salt stress in green house conditions.

Key words: Acclimatization phase, Grande naine, *Musa*, NaCl, Salinity.

T2.20 Influencia de la temperatura en la germinación de semillas, formación de callos y regeneración de plantas en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.

Damaris Torres Rodríguez*, Lourdes R. García, Novisel Veitía Rodríguez, Raúl Collado López, Amanda Martirena Ramírez, Leonardo Rivero Quintana

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *damaris@ibp.co.cu

La producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) tiene gran importancia en Cuba, sin embargo, diversos factores afectan el rendimiento de este cultivo y no todas las variedades de frijol responden de la misma forma a las condiciones estresantes. El objetivo de este trabajo fue: determinar la respuesta de genotipos de *P. vulgaris*, en condiciones inducidas de estrés térmico. Se expusieron semillas de las variedades 'ICA Pijao' (Susceptible) y 'Tío Canela' (Tolerante) a diferentes temperaturas 30-50°C. Estas fueron germinadas *in vitro* y fueron utilizadas para la formación de callos y regeneración de plantas. Los resultados mostraron diferencias entre las variedades. Cuando se emplearon las temperaturas de 45 y 50°C no se encontró afectación en la germinación de las semillas en la variedad tolerante, mientras que para la variedad susceptible se encontraron grandes afectaciones en la temperatura de 45°C y no hubo germinación para 50°C. Con la temperatura de 35- 40°C se logró obtener diferencias significativas entre variedades en las variables evaluadas: formación de callos y regeneración de plantas.

Palabras clave: frijol común, selección *in vitro*, tolerancia a altas temperaturas

Influence of temperature on seed germination, callus formation and plant regeneration in two varieties of *Phaseolus vulgaris* L.

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production has been very important in Cuba, however, several factors affect the yield of this crop and not all varieties of beans respond the same way to the stressful conditions. The aim of this study was to determine the response of different *P. vulgaris* genotypes under thermal induced stress. Seeds of varieties 'ICA Pijao' (susceptible) and 'Tío Canela' (Tolerant) were exposed at different temperatures 30-50°C. These were germinated *in vitro* and were used for callus formation and plant regeneration. The results showed differences between varieties. When temperatures of 45 and 50°C were employed no affectation was found in the germination of seeds in the tolerant variety, whereas the susceptible variety major damages were found in the temperature of 45°C and no germination to 50°C. With temperature of 35-, 40°C was possible to obtain significant variations in the variables evaluated: callus formation and plant regeneration.

Keywords: common bean, high temperatures tolerance, *in vitro* selection

T2.21 Efecto del PEG 6000 sobre variedades de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas *in vitro*

Lourdes R. García*, Novisel Veitia Rodríguez, Raúl Collado López, Amanda Martirena Ramírez, Dámaris Torres Rodríguez, Leonardo Rivero Quintana

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *lourdes@ibp.co.cu

En el frijol común, los rendimientos se ven afectados por varias causas, entre las cuales, la sequía genera pérdidas entre 10 y 100 %. En Cuba, cerca del 60 % de las regiones productoras de frijol presentan períodos prolongados de sequía, siendo esta el segundo factor más importante de reducción en rendimiento después de las enfermedades. El desarrollo de cultivares adaptados a esta amenaza es esencial para contribuir a la seguridad alimentaria de la población. El desarrollo de metodologías de selección *in vitro* o selección temprana en *P. vulgaris* es un requisito imprescindible que permitiría acortar el programa de mejoramiento y los procesos de selección. Este trabajo tuvo como objetivos determinar la influencia de PEG-6000 en

dos variedades de frijol que presentan diferentes niveles de tolerancia a la sequía. Para el establecimiento de la Curva dosis / efecto se desarrollaron experimentos con diferentes concentraciones de PEG 6000 (4, 8, 12, 16, 20 %) en cotiledones, callos y plantas *in vitro* de las variedades 'ICA Pijao' (Susceptible a sequía) y 'Tío Canela' (Tolerante a sequía). Los resultados mostraron que el explante más sensible a las diferentes concentraciones de PEG 6000 fue la planta *in vitro*. En los cotiledones no se encontró diferencias significativas para la variable grado de afectación del explante en ningún tratamiento. En los callos se encontraron diferencias entre las variedades con 8 % y 12 % de PEG 6000.

Palabras clave: frijol común, selección *in vitro*, tolerancia a sequía

Effect of PEG 6000 on *Phaseolus vulgaris* L. varieties cultivated *in vitro*

In common, bean yields are affected by various causes, among which, drought causes losses between 10 and 100 %. In Cuba, about 60 % of the bean is producing regions have prolonged periods of drought, this being the second most important factor of reduction in yield after illness. The development of cultivars adapted to this threat is essential to contribute to food security of the population. The development of methodologies for *in vitro* selection or early selection in *P. vulgaris* is a prerequisite that would shorten the breeding program and selection processes. The aim of this study was to determine the influence of PEG -6000 on two bean varieties have different levels of tolerance to drought. To establish the dose / effect curve were developed experiments with different concentrations of PEG 6000 (4, 8, 12, 16, 20 %) in cotyledons, callus and *in vitro* plants of varieties 'ICA Pijao' (drought susceptible) and 'Tío Canela' (drought tolerant). The results showed that the explant most sensitive to different concentrations of PEG 6000 was the *in vitro* plant. In the cotyledons were no significant differences for the variable affectation degree in treatment. In callus, differences between varieties with 8 % and 12 % PEG 6000 were found.

Keywords: common bean, drought tolerance, *in vitro* selection

T2.22 Efecto del tipo de explante para la aplicación de radiaciones gamma en la regeneración de plantas vía organogénesis

indirecta de *Phaseolus vulgaris* L. variedad 'ICA Pijao'

Amanda Martirena-Ramírez^{1*}, Novisel Veitía¹, Lourdes R. García¹, Raúl Collado¹, Damaris Torres¹, Leonardo Rivero¹, Miriam Ramírez-López²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *amanda@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

El mejoramiento genético convencional en frijol común resulta difícil debido a que presenta una base genética estrecha y muy estable. En este sentido, la combinación de la mutagénesis y el cultivo de tejidos, es una alternativa para inducir variabilidad genética en la búsqueda de tolerancia a factores bióticos y abióticos. Es por ello, que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el tipo de explante para la aplicación de radiaciones gamma en la regeneración de plantas vía organogénesis indirecta de *Phaseolus vulgaris* variedad 'ICA Pijao'. Para ello, se aplicaron radiaciones gamma en callos, en el nudo cotiledonal con un cotiledón (NC-1) con dosis de 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 Gy y semillas con 0, 100, 200, 300 y 400 Gy. Se emplearon 100 explantes por tratamiento mutagénico y del control sin irradiar. Las evaluaciones se realizaron a los 21 días de cultivo posteriores al tratamiento mutagénico. Se determinó, la longitud de las raíces en las semillas germinadas, masa fresca (g) de los callos y el número de brotes por callo. Las radiaciones gamma provocaron una disminución de la masa fresca de los callos y en los NC-1. Los callos y los NC-1 solamente formaron brotes con las dosis de 10 y 20 Gy, pero estos fueron hiperhídricos y con hojas deformadas. Los resultados demostraron que las semillas irradiadas fue el explante con el que se logró la regeneración de brotes con hojas definidas, por lo que se recomienda como explante inicial para el uso combinado de la mutagénesis y la regeneración *in vitro* de plantas de *P. vulgaris* variedad 'ICA Pijao' vía organogénesis indirecta.

Palabras clave: callos, frijol, mejoramiento genético, mutagénesis *in vitro*, radiosensibilidad

Effect of the explant for the application of gamma radiation in the regeneration of plants via indirect organogenesis variety of *Phaseolus vulgaris* L. 'ICA Pijao'

Conventional breeding in common bean is difficult because they have a close and very stable genetic base. In this regard, the combination of mutagenesis and tissue culture is an alternative to induce genetic variability in the search for tolerance to biotic and abiotic factors. For this reason, the present study aimed to determine the type of explant for the application of gamma radiation in the regeneration of plants via indirect organogenesis of *P. vulgaris* variety 'ICA Pijao'. To do this, gamma callus, cotyledon junction in a cotyledon (NC-1) with doses of 0, radiation 10, 20, 30, 40, 50 and 60Gy and seeds with 0, 100, 200, 300 and were 400Gy applied. One hundred explants were used by mutagenic treatment and non-irradiated control. Evaluations were performed at 21 days post culture to mutagenic treatment. The length of roots in sprouts, fresh mass (g) of the callus and the number of shoots per callus were determined. The gamma radiation caused a decrease in the fresh weight of callus and NC-1. Corns and NC-1 only formed buds with doses of 10 and 20Gy, but these were hyperhydric and deformed leaves. Results demonstrated that the irradiated seeds was explant with regeneration of shoots with leaves defined achieved, so it is recommended as initial explant for combined use of mutagenesis and *in vitro* regeneration of plants for *P. vulgaris* variety 'ICA Pijao' via indirect organogenesis.

Keywords: beans, callus, genetic improvement, *in vitro* mutagenesis, radiosensitivity

T2.23 Determinación de la dosis óptima de radiaciones gamma para la regeneración de plantas *in vitro* de *P. vulgaris* variedad 'ICA Pijao'

Novisel Veitía^{1*}, Amanda Martirena-Ramírez¹, Lourdes R. García¹, María Caridad González Cepero², Raúl Collado¹, Damaris Torres¹, Leonardo Rivero¹, Miriam Ramírez-López³

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *novisel@ibp.co.cu

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Gaveta Postal No 1, San José de Las Lajas. Mayabeque. La Habana. Cuba. CP 32 700.

³Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830 La mutagénesis combinada con el cultivo de tejidos constituye una alternativa para los programas de mejora genética en *P. vulgaris*. Es por ello, que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la dosis óptima de radiaciones gamma para inducir variabilidad genética en *P. vulgaris* variedad 'ICA Pijao'. Se emplearon semillas maduras a las cuales se les aplicó las siguientes dosis de radiaciones gamma: 20, 30, 40, 50, 60, 70 Gy y un control sin irradiar. Las semillas irradiadas se germinaron *in vitro* y se utilizó el nudo cotiledonal con un cotiledón para la formación de callos. Se emplearon 100 semillas por tratamiento mutagénico y del control sin irradiar. Las evaluaciones se realizaron a los 21 días después de aplicadas las radiaciones. Se registró el porcentaje de explantes que formaron callos, la masa fresca (g) de los mismos. Con estos valores se determinó la Dosis letal media (DL₅₀). En la regeneración, se determinó el número de brotes por callo, a partir de estos valores se calculó la Dosis Reductiva media (GR₅₀). Las principales afectaciones se produjeron en la formación de los callos y en la regeneración de brotes. Se seleccionó la dosis de 50 Gy para los tratamientos masivos de semillas de 'ICA Pijao' ya que esta fue la dosis más próxima a la DL₅₀ y GR₅₀, con la cual se logró 48.49 %, de explante con callo, la masa fresca de los callos con valores de 45.81 % respecto al control y 46.07 % de brotes por callo.

Palabras clave: brotes regenerados, frijol común, organogénesis indirecta, radiosensibilidad

Optimal dose of gamma radiation to regenerate *in vitro* plants of *P. vulgaris* variety 'ICA Pijao'

The combined mutagenesis with tissue culture is an alternative for breeding programs in *P. vulgaris*. It is for this reason that the present work was to determine the optimal dose of gamma radiation to induce genetic variability in *P. vulgaris* variety 'ICA Pijao'. Mature seeds which were administered the following doses of gamma radiation: 20, 30, 40, 50, 60, 70 Gy and non-irradiated control were used. The irradiated seeds were germinated *in*

vitro and cotyledon node with one cotyledon for callus formation was used. One hundred seeds were used by mutagenic treatment and non-irradiated control. Evaluations were performed at 21 days after application of radiation. The percentage of explants formed callus fresh weight (g) thereof was recorded. With these values, the median lethal dose (LD₅₀) was determined. In regeneration, the number of shoots per callus was determined from these average values dose reductive (GR₅₀) was calculated. The main effects were produced in callus formation and shoot regeneration. The dose of 50 Gy for mass treatment of seeds 'ICA Pijao' was selected as this was close to the LD₅₀ and GR₅₀ dose, which 48.49 % fresh weight was achieved, explant with callus with values of 45.81 % compared to 46.07 % control of shoots per callus.

Keywords: common bean, indirect organogenesis, radiosensitivity, regenerated shoots

T2.24 *Phaseolus vulgaris* L. regeneration systems and their application for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation

Raúl Collado^{1*}, Idalmis Bermúdez-Caraballos¹, Lourdes R. García¹, Novisel Veitia¹, Damaris Torres¹, Carlos Romero¹, Amanda Martirena-Ramírez¹, Geert Angenon²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP-54 830. *raulc@ibp.co.cu

²Laboratory of Plant Genetics, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Pleinlaan 2, B-1050 Brussels, Belgium.

One of the main aim of the bean breeding programs is to establish an efficient, reproducible, genotype independent protocol for routinely obtaining stable transgenic plants of *Phaseolus vulgaris* L. using *Agrobacterium tumefaciens* for gene transfer. For contributing to the aim different regeneration systems for *P. vulgaris* L. were investigated in this work; and the established systems were applied to develop an *Agrobacterium*-based transformation method. A reproducible procedure for the regeneration of fertile plants by direct organogenesis from cultures of *P. vulgaris* L. using stem sections as initial explant was established. Pre-culture of explants in

liquid medium with TDZ, was a critical step for multiple bud induction. Studies on somatic embryogenesis were initiated, in particular the effect of 2,4-D and explant type. The addition of 2,4-D to the culture medium induced somatic embryogenesis, and the response was influenced by the explant orientation on the culture medium. Efforts were focused on establishing a protocol for the *in vitro* regeneration of *P. vulgaris* via indirect organogenesis. Several factors such as explant type, seed age, culture media composition and culture conditions were assessed. The use of cotyledonary nodes with one or two cotyledons attached, which have not been used as initial explants for common bean regeneration before, was an important factor for the successful formation of morphogenetic green nodular compact calli. The number of shoots per callus was dependent on both the concentration of TDZ used during callus proliferation and the BAP concentration used for shoot formation. The optimization of several parameters involved in *Agrobacterium*-mediated DNA-transfer combined with efficient direct or indirect organogenesis allowed to develop a working scheme to obtain putative transgenic plants. The use of green nodular calli as target explant for common bean transformation played an important role for successfully obtaining transformed plants.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens*, common bean breeding, genetic transformation

T2.25 Determinación de la concentración óptima de metano sulfonato de etilo para generar una población de mutantes de frijol común var. 'DOR 364'

Luis Rojas-Jiménez^{1*}, Raúl Collado¹, Aidelyn León- García², Novisel Veitia¹, Amanda Martirena-Ramírez¹, Leonardo Rivero¹, Bárbara Ocaña¹, Damaris Torres¹, Silvio Martínez³, Lourdes R. García¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *luis@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

³Centro de Investigaciones Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las principales fuentes de proteínas en los países del tercer mundo. Es un cultivo afectado por factores bióticos y abióticos que limitan su producción. La obtención de variedades mejoradas por diferentes rutas, para incrementar el rendimiento y la tolerancia a diferentes estrés, es el objetivo principal de los programas de mejoramiento genético. El empleo de la mutagénesis es una vía eficiente para la creación de variedades con caracteres deseados, en ello juegan un papel importante, los mutágenos químicos y las técnicas de genética reversa. Con el objetivo de determinar la concentración óptima de metano sulfonato de etilo (EMS) para generar una población de mutantes de frijol común var. 'DOR 364', se estudiaron diferentes concentraciones en el rango de 20 – 60 mM. Para cada tratamiento, 125 semillas fueron colocadas en un Erlenmeyer con 150 ml de solución de EMS, en agitación constante, oscuridad total y a 22°C por 16 h. Las semillas tratadas fueron enjuagadas con agua destilada 10 veces durante 5 minutos cada vez. Posteriormente se sembraron en bolsas de polietileno en casa de cultivo en condiciones semicontroladas. A partir de los siete días, se realizaron varias evaluaciones relacionadas con la germinación de las semillas, el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas. El incremento de la concentración de EMS provocó disminución en la germinación parcial y total de las semillas. Los valores más bajos de estos indicadores se observaron en las semillas tratadas con las concentraciones de 50 y 60mM de EMS. El EMS también afectó el crecimiento, desarrollo y el rendimiento de las plantas en la medida que se aumentó la concentración de este mutágeno, los valores de las variables altura de las plantas y emisión de la primera hoja trifoliada disminuyeron. En todos los tratamientos se observaron plantas con variaciones fenotípicas, presentando mayor frecuencia, la presencia de albinismo, plantas enanas, hojas deformadas y con ausencia de foliolos. Se determinó que 30 mM de EMS es la concentración óptima para la generación de una población de mutantes en frijol común var. 'DOR 364'.

Palabras clave: EMS, mutantes, variaciones

Determination of optimal concentration of ethyl methane sulphonate to generate a mutants population of common bean var. 'DOR 364'

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the main sources of protein in third world countries. It is a crop affected by biotic and abiotic factors limiting production. Obtaining improved by different routes, to increase the yield and stress tolerance to different varieties, it is the main objective of breeding programs. Using mutagenesis is an efficient way to create varieties with desired character, it plays an important role, chemical mutagens and reverse genetics techniques. In order to determine the optimal concentration of ethyl methane sulfonate (EMS) to generate a population of common bean mutants var. 'DOR 364' various concentrations were studied in the range from 20 - 60 mM. For each treatment, 125 seeds were placed into an Erlenmeyer with 150 ml of EMS solution, under constant stirring, and total darkness at 22°C for 16 h. Treated seeds were rinsed with distilled water 10 times for 5 minutes every time. Later they were planted in polyethylene bags at home cultivation under controlled conditions. After seven days, several evaluations related to seed germination, growth, development and yield of the plants were performed. Increasing the concentration of EMS caused decrease in partial and total seed germination. The lowest values of these indicators were observed in seeds treated with concentrations of 50 and 60 mM EMS seeds. The EMS also affects growth, development and yield of plants. Increasing the concentration of the mutagen, the values of the variables plant height and emission of the first trifoliate leaf decreased. In all treatment plants were observed phenotypic variation, presenting more frequently, the presence of albinism, dwarf plants and deformed leaves. We determined that 30 mM EMS is the optimal concentration to generate a population of mutants in common bean var. 'DOR 364'.

Keywords: EMS, mutants, variations

T2.26 Production of marker-free transgenic banana with improved tolerance to Black Sigatoka disease

Borys Chong-Pérez^{1,2*}, Maritza Reyes¹, Luis Rojas¹, Bárbara Ocaña¹, Rafael G. Kosky¹, Geert Angenon²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *boris@ibp.co.cu

²Laboratory of Plant Genetics, Institute for Molecular Biology and Biotechnology, Vrije Universiteit Brussel, Pleinlaan 2, B-1050 Brussels, Belgium.

Production of improved transgenic crops devoid of selectable marker genes remains challenging. In this study we generated marker-free transgenic banana cv. 'Grande naine' (*Musa* AAA) constitutively expressing the tobacco osmotin gene *ap24*. Embryogenic cell suspensions were transformed with *Agrobacterium tumefaciens*, strain EHA105 harboring the vector pAthsp-AP24. This vector contains between two *loxP* sites in direct orientation the selectable marker gene cassette *pNos-hpt-tNos* and the *cre* recombinase gene driven by the heat shock promoter pHSP18.2 from *Arabidopsis thaliana*. After selection on hygromycin containing medium, primary transgenic somatic embryos were subjected to heat-shock and thereafter transferred to antibiotic-free regeneration medium. Molecular analyses of genomic DNA from regenerated plantlets confirmed the integration of *ap24* gene and the excision of the selectable marker and *cre* genes in 40 % of the regenerants. Transgenic plants exhibited enhanced tolerance to *Mycosphaerella fijiensis* in an artificial inoculation assay under greenhouse conditions. From these results it could be concluded that the Cre/lox system can be used to produce marker-free disease-resistant transgenic banana plants.

Keywords: *Agrobacterium*; banana; Cre-lox; marker gene excision; *osmotin*; transgenic plant

T2.27 Transformación genética y expresión del gen antifúngico PGIP2 en *Musa* cv. 'Grande naine' (AAA)

Mairenys Concepción-Hernández*, Maritza Reyes Vega, Mayelín Rodríguez Urquiza, Rafael Gómez-Kosky, Orlando Borrás-Hidalgo, Borys Chong-Pérez

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *mairenys@ibp.co.cu

La producción mundial de bananos y plátanos es afectada por la incidencia de la Sigatoka negra y el Mal de Panamá, causadas por los hongos *Mycosphaerella fijiensis* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, respectivamente. Mientras que la Sigatoka negra es controlada parcialmente mediante el uso extensivo de fungicidas, no existe en la actualidad un método efectivo para la erradicación del Mal de Panamá. Debido a esto, la obtención de variedades resistentes mediante la transformación genética resulta factible para enfrentar esta situación. Así, el empleo de proteínas inhibidoras de poligalacturonasas que inducen respuestas de defensa en las plantas es una estrategia prometedora. El objetivo de este trabajo fue obtener plantas de banano cv. 'Grande naine' (*Musa* AAA) que porten y expresen el gen *PGIP2* de *Phaseolus vulgaris* L. con el empleo de la transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* de suspensiones celulares embriogénicas. Luego de la selección y regeneración se obtuvieron 81 líneas posiblemente transformadas, con una eficiencia de transformación de 13 plantas/50 mg de células. La presencia del inserto fue analizada en 72 de estas líneas mediante PCR de los genes *PvPGIP2* y *nptII*, obteniéndose frecuencias de transformación de 94.4 % y 88.9 %, respectivamente. Adicionalmente, siete plantas transgénicas fueron adaptadas en casa de cultivo y resultaron positivas para la expresión a nivel transcripcional del gen *PGIP2* mediante el empleo de RT-PCR. Por primera vez se obtuvieron plantas de banano que contienen este gen, sin embargo, se requieren otros estudios para confirmar si confiere protección frente al ataque de los patógenos.

Palabras clave: bananos, proteína inhibidora de poligalacturonasa, transformación genética

Genetic transformation and expression of the antifungal gene *PGIP2* in *Musa* cv. 'Grande naine' (AAA)

The worldwide production of bananas and plantains is severely affected by the occurrence of Black Sigatoka and Panama diseases, caused by fungal pathogens *Mycosphaerella fijiensis* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, respectively. While Black Sigatoka is partially controlled through the extensive use of fungicides, up till now no effective means to eradicate Panama disease have been developed. Therefore, the obtainment of resistant varieties through genetic transformation is a feasible manner to overcome

this situation. Thus, the use of polygalacturonase inhibiting proteins (PGIPs) that enhance defence responses in plants is a promising strategy. The aim of this work was to obtain plants of banana cv. 'Grande naine' (*Musa* AAA) that contain and express the *PGIP2* gene from *Phaseolus vulgaris* L. through *Agrobacterium*-mediated transformation of embryogenic cell suspensions. After the selection and regeneration processes, 81 putatively transformed lines were obtained, with an efficiency of 13 plants/50 mg of cells. Seventy-two lines were then analyzed using PCR to verify the presence of *PGIP2* and *nptII* genes, showing transformation frequencies of 94.4 % and 88.9 %, respectively. Additionally, seven transgenic plants grown in greenhouse were tested positive for *PGIP2* expression at a transcriptional level through RT-PCR. As a result, banana plants containing this gene were obtained for the first time. Nevertheless, further studies are needed to confirm whether it protects banana plants after challenge with the pathogens.

Keywords: bananas, genetic transformation, polygalacturonase inhibitor protein

T2.28 Análisis de los genes homólogos de *CmNACP1* en *Arabidopsis thaliana*

Brenda Yazmín Vargas Hernández, Roberto Ruíz Medrano*, Beatriz Xoconostle Cázares, Rodolfo Marsch Moreno

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Del. Gustavo A. Madero, San Pedro Zacatenco. CP. 07360. Ciudad de México, D.F.
<http://www.biotecnologia.cinvestav.mx/>
 *rmedrano@cinvestav.mx

En plantas vasculares, la principal función del floema es el transporte de nutrientes desde los tejidos fotosintéticos a los tejidos heterotróficos, asimismo, se encarga del transporte de algunas macromoléculas como proteínas y diferentes tipos de RNAs que actúan como moléculas señal en respuesta a distintos factores bióticos y abióticos. En el floema de cucurbitáceas se han identificado cerca de 1 500 transcritos. Se ha demostrado que el mRNA de *CmNACP1* es capaz de transportarse a través del floema de calabaza y que se acumula en tejidos meristemáticos en heteroinjertos. *CmNACP1* pertenece a la familia de genes NAC

presente exclusivamente en plantas y que codifica para factores de transcripción involucrados en procesos de respuesta a varios factores ambientales. Además, mediante un análisis filogenético se observó que *CmNACP1* se agrupa directamente con dos genes en *A. thaliana* (ANAC046/87). Debido a que actualmente no existe información acerca de estos genes; el objetivo de esta investigación es llevar a cabo su análisis para determinar si ambos son homólogos funcionales de *CmNACP1* así como dilucidar la función e importancia de estos genes en el desarrollo de plantas para su futura aplicación en distintos cultivos. Se han diseñado tres construcciones genéticas: una para sobreexpresar las proteínas y así conocer su localización subcelular, otra para el análisis de promotores y conocer el patrón de expresión tejido-específico y finalmente una construcción de silenciamiento para evaluar los cambios fenotípicos en planta. Todos estos fragmentos ya han sido clonados en vectores binarios y también se transformaron plantas de *A. thaliana*. Hasta el momento, se cuenta con algunas líneas sobreexpresoras y se continúa seleccionando con glufosinato de amonio. Además, se realizó la transformación transitoria de plantas de *Nicotiana benthamiana* con los ORFs y se visualizó por microscopía confocal.

Palabras clave: Factores de transcripción NAC, Floema, tejido vascular, transporte a larga distancia

Analysis of the homologous genes from *CmNACP1* in *Arabidopsis thaliana*

In vascular plants, the main function of phloem is the transport of nutrients from photosynthetic to heterotrophic tissues. Some proteins and RNAs can also be transported through the phloem, acting as signals in response to different biotic and abiotic factors¹. Approximately 1500 transcripts have been identified in the phloem of cucurbits². In addition, it has been shown that the *CmNACP1* mRNA can be transported through the phloem of pumpkin and accumulates in meristematic tissues in heterografts³. *CmNACP1* belongs to the NAC gene family present exclusively in plants, encoding transcription factors involved in response to different environmental factors⁴. A phylogenetic analysis showed that *CmNACP1* groups directly with two genes (ANAC046/87) from *A. thaliana*. Due to the lack of available information on NAC family members, this study aims to analyze both *ANAC* genes for functions

homologous to *CmNACP1*, and to elucidate their involvement in plant development for future crop improvement applications. For this purpose, we designed three genetic constructs: one to assess the localization of the *ANAC* proteins following overexpression; another to analyze the promoter regions and determine expression patterns; and the third, a silencing construct to assess the phenotypic changes in *ANAC* knocked-down plants. All fragments were cloned into binary vectors and used to transform *A. thaliana*. Until now, we have some transgenic over-expressing lines and continue transformant selection with glufosinate ammonium. *Nicotiana benthamiana* was transiently transformed for protein overexpression and localization visualized by confocal microscopy.

Keywords: long-distance transport, NAC transcription factors, Phloem, vascular tissue

T2.29 Drought stress decreases chromium contents in leaves of maize and common bean young plantlets

Lázaro Hernández¹, Annekathrin Rumlow², Ariel Turcios², Gustavo Lorente¹, Inaudis Cejas¹, María Borroto¹, Lourdes Yabor¹, Jutta Papenbrock², José Carlos Lorenzo^{1*}

¹Laboratory for Plant Breeding, Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila, Ciego de Ávila 69450, Cuba. *jclorenzo@bioplasmas.cu

²Leibniz University Hannover, Institute of Botany, Herrenhaeuser Str. 2, D-30419 Hannover, Germany. Jutta.Papenbrock@botanik.uni-hannover.de

Adverse environmental conditions, such as drought limit the geographical distribution of plant species and crop yield. Predicted climatic change, population growth and the importance of sustainable food production makes the development of stress tolerant crop cultivars a high-priority globally. Maize is the second most important agricultural crop worldwide. However, common bean, one of the world's most important grain legumes, is consumed as a dietary staple globally, particularly in Latin America and Africa. Efficient and effective genetic improvement of stress tolerance of crops requires easy to measure markers that have a higher heritability than the targeted abiotic stress trait. The aim of this work was to identify previously unreported

chemical markers for drought stress, which could be used for the rapid identification of putative stress tolerant maize and common bean plants in crop breeding programs. Stress screening was conducted on young plantlets; a method that allows large numbers of plants to be inexpensively screened. We measured the levels of Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Se, Sr and Zn in leaves of maize and common bean under drought stress. The most important changes in the mineral uptake caused by drought stress can be summarized as follows. Contents of Cr were significantly decreased in maize and common bean leaves. On the other hand, in maize Cu level was increased and Na content was decreased. Contrastingly, lower level of Cu and higher content of Al were recorded in common bean leaves under drought stress.

Keywords: abiotic stress, phaseolus, Zea mays

T2.30 The third vegetative generation of a field-grown transgenic pineapple clone shows minor side effects of transformation on plant physiological parameters

Lourdes Yabor^{1*}, Bárbara Valle¹, René Carlos Rodríguez¹, Carlos Aragón¹, Jutta Papenbrock², Christoph C. Tebbe³, José Carlos Lorenzo¹

¹Laboratory for Plant Breeding, Bioplant Center, University of Ciego de Avila, Ciego de Ávila, CP 69 450, Cuba. *lyabor@bioplantillas.cu

²Leibniz University Hannover, Institute of Botany, Herrenhaeuser Str. 2, D-30419 Hannover, Germany. Jutta.Papenbrock@botanik.uni-hannover.de

³Thünen Insititut of Biodiversity, Federal Research Institut for Rural Areas, Forestry and Fisheries, Braunschweig, Germany. christoph.tebbe@ti.bund.de

Genetic modifications of pineapple provide the potential to increase fungal resistance without the use of pesticides. Previously, we developed a procedure for pineapple callus transformation, introducing the antifungal chitinase and AP24 genes, and the herbicide-tolerance conferring bar gene as a selectable marker. The three recombinant genes were under the control of the constitutively expressing promoters OCS-35S CaMV-rice actin I, 35S CaMV, and maize Ubi1, respectively. The objective of this study was to

analyze whether these genetic modifications caused unintentional side effects on growth-related properties under field conditions. We analyzed the third vegetative generation of a transgenic pineapple clone, approximately 7 years after the genetic modification occurred. Plant height and diameter, chlorophyll and phenolic contents, fruit mass and *D* leaf (middle-age) mass, water content, succulence, sap pH, transpiration, CO₂ assimilation, and water use efficiency were recorded and compared to a micro-propagated cultivar. A macro-propagated variant was also cultivated at the field site in order to distinguish unintended effects of the propagation method from that of the genetic modification. While all parameters analyzed in this study were highly similar to each other for the three cultivars, statistical analyses revealed significant deviations of the genetically modified variant for the succulence index being higher at in the morning and evening, carbon dioxide assimilation being lower at noon and, at night, the water use efficiency was lower. The minor deviations were all within the range which can be expected between common cultivars grown together.

Keywords: *Ananas comosus* (L.) Merr., field performance, plant transformation

T2.31 Identification of Discriminant Factors after Exposure of Maize and Common Bean Plantlets to Abiotic Stresses

Lázaro Hernández¹, Octavio Loyola-González¹, Bárbara Valle¹, Julia Martínez¹, Leyanes Díaz-López¹, Carlos Aragón¹, Oscar Vicente², Jutta Papenbrock³, Richard Trethowan⁴, Lourdes Yabor¹, José Carlos Lorenzo¹

¹Laboratory for Plant Breeding, Bioplant Center, University of Ciego de Avila, Ciego de Ávila, CP 69 450, Cuba. *jclorenzo@bioplantillas.cu

²Leibniz University Hannover, Institute of Botany, Herrenhaeuser Str. 2, D-30419 Hannover, Germany.

³Thünen Insititut of Biodiversity, Federal Research Institut for Rural Areas, Forestry and Fisheries, Braunschweig, Germany.

Adverse environmental conditions limit crop yield and better understanding of plant response to stress will assist the development of more tolerant cultivars. Maize and common bean plantlets were

evaluated under salinity, high temperature, drought and waterlogged conditions to identify biochemical markers which could be useful for rapid identification of putative stress tolerant plants. The levels of phenolics (free, cell wall-linked, total), aldehydes including malondialdehyde and chlorophylls (a, b, total) were measured on stressed plantlets. Only two indicators were statistically non-significant: chlorophyll b in maize plantlets stressed with sodium chloride and malondialdehyde content in drought stressed maize. The most remarkable effects of abiotic stresses can be summarized as follows: (i) salinity increased levels of free phenolics in maize plantlets and chlorophylls (a, b, total) in common bean; (ii) high temperature (40°C) elevated levels of chlorophylls (a, b, total) in maize but decreased chlorophylls (a, b, total) and free phenolics in common bean; (iii) drought increased phenolics and decreased chlorophylls (a, b, total) in maize and increased chlorophyll pigments (a, b, total) in common bean; (iv) waterlogging increased free phenolics and decreased chlorophylls (a, b, total) in maize and increased chlorophyll (a, total) in common bean. Free phenolics and chlorophylls, especially a, were the most responsive indicators to stress and can, therefore, be considered putative biochemical markers for abiotic stress tolerance in maize and common bean. The use of Fisher's linear discriminant analysis to differentiate non-stressed and stressed plants in breeding programs is also a novel aspect of this report. Fisher's linear discriminant functions classified correctly 100 % of non-stressed or stressed originally grouped plants.

Keywords: drought, high temperature, *Phaseolus*, salinity, *Zea mays*

T2.32 Sugarcane Technology Center - Development of innovative technologies to increase agricultural efficiency of the sugarcane industry

Diego Henrique Souza Ferrés*, Danila Montewka Melotto-Passarin

Centro de Tecnologia Canavieira - CTC (Sugarcane Technology Center), Piracicaba, São Paulo, Brazil. *diego.ferres@ctc.com.br

The perspective for Brazil to consolidate itself as the world's leading supplier of renewable fuels, mostly derived from sugarcane, is feasible thanks to its continental dimensions, abundant natural

resources and rational use of its vast areas. Many environmental factors influence sugarcane production and the success of this industry is strongly anchored on the use of varieties adapted to the various soil and climatic conditions of each producing region to ensure their good performance and productivity. The Sugarcane Technology Center (CTC) is an advanced, 100 % Brazilian company, which aims to develop the most efficient technological solutions for the sugarcane industry through the best scientific and commercial practices, to lead innovation in biofuels production, maintaining and enhancing Brazilian competitiveness worldwide. CTC is focused on two technological pillars: breeding and development of disruptive technologies such as artificial seeds and cellulosic ethanol technology. CTC has the largest program of sugarcane varieties development in the world. The center uses traditional breeding with molecular markers and biotechnology, delivering increasingly productive varieties adapted to different regions of Brazil, and genetically modified varieties that enhance sugarcane productivity in the field. The first sugarcane genetically modified will be launched in 2017 with the Bt gene for resistance to sugarcane borer. Develop an efficient plant regeneration via somatic embryogenesis system will provide producers artificial seeds of new varieties obtained by traditional and biotechnological methods. The artificial seeds will have numerous advantages over conventional multiplication system in the field, such as high phytosanitary quality that ensure the productivity. To increase ethanol annual production through sugarcane productivity, CTC also invests in development of cellulosic ethanol technology, produced from cellulosic materials of sugarcane biomass such as bagasse and straw.

Keywords: artificial seeds, breeding, CTC, innovation, sugarcane

TALLER COMPUESTOS ACTIVOS

T3.1 Diterpenos de tabaco con actividad antibacteriana y nematocida *in vitro* frente a fitopatógenos

Yanelis Capdesuñer^{1*}, Janet Quiñones-Gálvez¹, Claudia Linares¹, Maribel Rivas¹, Geeisy Cid¹, Erinelvis Rodríguez², Madelin Gallo², Frank Walker³, Jochen Schöne³, Abbas el Hasan³, Grace Ngatia³, Ralf Vögele³, Martha Hernández¹

¹Metabolic Engineer Laboratory, Bioplants Center.
PO Box 69 450, Cuba.
*ycapdesuner@bioplantas.cu

²UCTB Tabaco. UCTB Estación Experimental del
Tabaco de Cabaiguán. Sancti Spíritus. Cuba.

³Institute of Phytomedicine. Faculty of Agriculture.
University of Hohenheim. 70599. Stuttgart.
Germany.

Los metabolitos secundarios de plantas son una alternativa para el control de microorganismos que ocasionan enfermedades. En este sentido, la planta de tabaco presenta principios activos potentes, alta estabilidad química, de óptima producción y es de fácil cultivo. Por tanto, este estudio se realizó con el objetivo de obtener extractos vegetales bioactivos a partir del tabaco contra patógenos para el control de enfermedades de los cultivos. Se obtuvieron extractos de exudados foliares de 10 líneas tabaco con el uso del etanol 90 % y se determinaron los rendimientos (mg de extracto seco·g⁻¹ de masa fresca foliar) para cada línea. Los mayores rendimientos se observaron para la Nic 1006 y los más bajos para la Nic 1016. Se determinaron por *TLC* y *HPLC* los diterpenos en los extractos obtenidos. La Nic 1015 presentó el mayor contenido de α-CBT diol y la Nic 1003 el mayor contenido de cis abienol en los extractos etanólicos de exudados foliares. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a 8 bacterias fitopatógenas por el método de difusión en agar con discos y nematocida *in vitro* frente el nematodo *Meloidogyne incognita*. Todos los extractos mostraron actividad antibacteriana frente a *Xanthomonas campestris* pv *tomato* y el extracto de la Nic 1015 mostró actividad además frente a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, *Pectobacterium carotovorum*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* y *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Se seleccionaron cuatro extractos (correspondientes a las líneas Nic 1019, Nic 1061, BHmN y Nic 1015) para evaluar actividad nematocida *in vitro* y se mostraron activos en la muerte de las larvas e inhibición de la eclosión de los huevos. Estos resultados sugieren el uso potencial de estos extractos obtenidos a partir de las líneas no comerciales de tabaco y con un amplio espectro el extracto de la línea Nic 1015 contra bacterias y nematodos que causan enfermedades en cultivos de importancia agrícola.

Palabras clave: cis abienol, extractos etanólicos, exudados foliares

Diterpenes of tobacco with *in vitro* antibacterial and nematocidal activity against plant pathogens

The plant secondary metabolites are an alternative for the control of disease-causing microorganisms. In this regard, the tobacco plant presents potent active principles with high chemical stability, optimum production and is easy to grow. So, this study was conducted with the objective of obtaining bioactive plant extracts from tobacco against bacteria and nematode to control diseases of crops. Leaf exudates of 10 tobacco lines were obtained using 90 % ethanol and yields were determined (mg dry extract · g⁻¹ fresh weight of leaf) for each line. The highest yields were observed for Nic 1006 and the lowest for Nic 1016. The major diterpenes in extracts were determined by *TLC* and *HPLC*. The Nic 1015 had the highest content of α-CBT diol and Nic 1003 the highest content of cis abienol in the ethanolic extracts of leaf exudates. The antimicrobial activity was evaluated against 8 phytopathogenic bacteria by the agar diffusion method with disks and *in vitro* nematocidal against the nematode *Meloidogyne incognita*. All extracts showed antibacterial activity against *Xanthomonas campestris* pv *tomato*. Nic 1015 also showed activity against *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, *Pectobacterium carotovorum*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* and *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Four extracts (corresponding to the lines Nic 1019, Nic, Nic 1061, BHmN and Nic 1015) were selected to evaluate nematocidal activity *in vitro* and were active in larval death and inhibiting eggs hatching. The results of *in vitro* studies suggest the potential use of extracts obtained from non-commercial tobacco lines and a promissory line Nic 1015 with wide spectrum against bacteria and nematode that cause disease in crops of agricultural importance.

Keywords: cis abienol, ethanolic extracts, leaf exudates

T3.2 Determinación de metabolitos secundarios y actividad biológica de *Anredera vesicaria*

Eugenio Torres Rodríguez^{1*}, Mayren de La Cruz Fría², José Ángel Morales León¹, Zonia Guillén González³

¹Centro de Estudio de Química Aplicada. Universidad de Granma.
*etorresrodriguez@udg.co.cu

²Departamento de Biología. Universidad de Granma.

³Departamento de Química. Universidad de Granma.

Anredera vesicaria es una planta muy empleada en la región oriental de Cuba para tratar inflamaciones provocadas por golpes y fracturas, sin embargo, no existen datos de su composición química que justifiquen su uso como antiinflamatorio. La presente investigación tuvo como objetivo identificar metabolitos secundarios de interés medicinal en las hojas, tallos y rizomas de *Anredera vesicaria*. A la biomasa recolectada se le aplicó un proceso de lavado, desinfección, secado y pulverización. Un ejemplar fue identificado en el Herbario del Jardín Botánico Cupaynicú, serie Catasús, número 2601. Muestras aéreas y subterráneas se sometieron a extracciones con agua y etanol usando ultrasonido. A los extractos se les realizó tamizaje fitoquímico, cuyos resultados fueron corroborados por cromatografía de capa delgada y espectroscopía ultravioleta e infrarroja. La actividad antioxidante de los extractos se determinó mediante espectroscopía uv-visible, por dos métodos: empleando ferricianuro de potasio (Poder Reductor) y molibdato de amonio (Actividad antioxidante total), se empleó Vitamina C como patrón. Un incremento de la absorbancia de la mezcla de reacción indica incremento del poder reductor. Como resultados se identificaron carbohidratos, fenoles, flavonoides, cumarinas, alcaloides, triterpenos, mucílagos y saponinas. En el extracto etanólico de las hojas se encontró la mayor diversidad de metabolitos secundarios, sin embargo, en los rizomas hay mayor abundancia de fenoles, esteroides y mucílagos. A partir de los rizomas se aisló un sólido blanco amorfo que fue identificado como el ácido oleanólico. El extracto de rizomas mostró marcada actividad antioxidante, se obtuvieron resultados similares por los dos métodos empleados. Se pudo concluir que la abundancia de triterpenos y mucílagos en *Anredera vesicaria* podría contribuir con su actividad antioxidante.

Palabras clave: ácido oleanólico, actividad antioxidante, *Anredera vesicaria*, tamizaje fitoquímico

T3.3 Avances en la ingeniería genética de *Digitalis purpurea* L.

Elizabeth Kairúz Hernández-Díaz^{1,2}, Naivy Pérez-Alonso^{2*}, Alina Capote², Anabel Pérez², Elio Jiménez², Geert Angenon³, Borys Chong-Pérez²

¹Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *naivy@ibp.co.cu

³Laboratory of Plant Genetics, Institute for Molecular Biology and Biotechnology, Vrije Universiteit Brussel, Pleinlaan 2, B-1050 Brussels, Belgium

La ingeniería metabólica de *Digitalis purpurea* L. cultivada *in vitro*, para la potenciación de la biosíntesis de cardenólidos, es una meta que permitirá propagar masivamente plantas transformadas, con una productividad más uniforme que la registrada en condiciones naturales. Con este objetivo se han desarrollado esquemas de selección con antibióticos, protocolos de regeneración y transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens*, así como una metodología para la escisión de genes marcadores de selección. En esta ponencia se realiza una revisión de las diversas estrategias y técnicas para la ingeniería genética de *D. purpurea* y un resumen del trabajo realizado en nuestros laboratorios con este cultivo. La aplicación de estos conocimientos para la obtención de cardenólidos, posibilitará producir medicamentos de uso extensivo como la digoxina, en países donde no se puede cultivar esta planta y abaratar los precios de producción.

Palabras clave: cardenólidos, genes marcadores de selección, golpe térmico, transformación genética

Towards genetic engineering of *Digitalis purpurea* L.

Metabolic engineering of *Digitalis purpurea* L. to enhance *in vitro* cardenolides biosynthesis could allow propagate transgenic plants with higher and standardized productions than in natural conditions. Therefore, several protocols for plant

regeneration, antibiotic selection systems and *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation have been developed. In addition, a method to excise selectable marker genes was established. The aim of this presentation is to review the strategies and techniques available for genetic engineering of *D. purpurea* and make a summary of some of the recent work conducted in our laboratory. The application of this knowledge to cardenolides production will contribute to obtain widely use drugs, as digoxin, in countries where *D. purpurea* is not cultivated and to diminish the manufacturer cost.

Keywords: cardenólidos, genetic transformation, heat shock, selection marker genes

T3.4 Propuesta de ampliación de la capacidad productiva del proceso de obtención de la proteína B-Ficoeritrina

Yanet Cervantes Blanco^{*1}, George Fernández Duharte², Juan C. Ferrer Romero¹

¹Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Oriente. Avenida de las Américas s/n-Santiago de Cuba, Código Postal 90900-Cuba. *ycervantes@uo.edu.cu

²Laboratorios de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX). Calle 23 y Carretera del Caney, Reparto Vista Alegre, Santiago de Cuba.

En esta investigación, realizada en los Laboratorios de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX), en Santiago de Cuba, debido al insuficiente volumen productivo del pigmento β -ficoeritrina (BPE), y a partir de un estudio teórico y experimental en laboratorio, se realizó la ampliación de la capacidad productiva de obtención de biomasa de la microalga *Porphyridium cruentum* y la evaluación del crecimiento celular en dos medios de cultivo: f/2 Guillard y Walne. Se alcanzó una producción de biomasa de *Porphyridium cruentum* 20 veces mayor que los obtenidos a escala de laboratorio en Erlenmeyer de 10 ml, resultando, para las condiciones dadas de cultivo, el medio de cultivo Walne el más favorable para el crecimiento para una producción de 11.5 g de biomasa seca en 30 litros y 28.8 mg de β -ficoeritrina al mes. Se hizo la propuesta de escalado de columnas de 1.6, 2.5, 3.5 y 6.0 cm de diámetro para la purificación cromatográfica del pigmento obtenido de dicha biomasa. Siendo las columnas de 3.5 y 6.0 cm de

diámetro las que garantizan el procesamiento de todo el volumen biomasa y la obtención de dicha cantidad de pigmento para un mes de trabajo. El conjugado anti-CD4-BPE, producido en nuestro país, posee favorables propiedades para ser usado en el Sistema de Salud Cubano en diversas técnicas de alta sensibilidad. Se confirmó la factibilidad económica del proceso propuesto teniendo en cuenta las dos alternativas de purificación (3.5 y 6.0 cm de diámetro) mediante el cálculo de la ganancia anual, así como la influencia sobre la ganancia de las variables precio de venta del producto y volumen de producción. Se recomienda, preliminarmente, que el precio de venta no sea menor de 30 CUC/mg de β -ficoeritrina y que se produzcan más de 8.6 mg mensuales.

Palabras clave: β -ficoeritrina, escalado de columnas, factibilidad económica, medios de cultivo

Proposed expansion of the productive capacity of the process of obtaining the protein B-phycoerythrin

In this research, conducted in the laboratories of Experimental Antibodies and Biomodels (LABEX) in Santiago de Cuba, due to insufficient production volume of the pigment β -phycoerythrin (BPE), and from a theoretical and experimental study in the laboratory, was made the expansion of the productive capacity of obtaining the microalgae biomass *P. cruentum* and evaluation of cell growth in two culture media: f / 2 Guillard and Walne. Biomass production *Porphyridium cruentum* 20 times higher than those obtained in laboratory scale Erlenmeyer 10 ml was reached. Resulting, for the given conditions of culture, the medium favorable for growth for a production of 11.5 g of dry biomass in 30 liters and 28.8 mg of β -phycoerythrin Walne month. The proposal of scaling columns was 1.6, 2.5, 3.5 to 6.0 cm in diameter for the chromatographic purification of the pigment obtained from said biomass. The columns being 3.5 and 6.0 cm in diameter which guarantees processing all the biomass volume and obtaining such amount of pigment for one month of work. The anti-CD4-BPE conjugate produced in our country, has favorable properties for use in the Cuban Health System in various techniques of high sensitivity. The economic feasibility of the process was confirmed proposed considering the two alternative purification (3.5 to 6.0 cm in diameter) by calculating the annual profit and gain influence over the variables sales price

product and production volumes. It is recommended, preliminarily, that the sale price is not less than 30 CUC / mg of β -phycoerythrin and more than 8.6 mg monthly occurrence.

Keywords: β -phycoerythrin, culture media, economic feasibility, scaling columns

T3.5 Efecto *in vitro* de extractos de raíces de *Morus alba* frente a *Helicobacter pylori*

Maykelis Díaz Solares^{1*}, Yudit Lugo Morales¹, Jacqueline Aparecida Takahashi²

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Central España Republicana, CP 44 280, Matanzas, Cuba. maykelis.diaz@ihatuey.cu

²Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. Laboratorio de Biotecnología y Bioensayos. Av. Antonio Carlos, 6627 CEP 31270-901. Belo Horizonte, MG, Brasil.

La bacteria *Helicobacter pylori* coloniza el epitelio gástrico humano de aproximadamente dos tercios de la población mundial y es responsable de la gastritis, la úlcera péptica y el linfoma asociado a la mucosa estomacal. La patología gástrica crónica debida a la infección de este microorganismo es el factor predominante de aparición de cáncer de estómago por lo que se considera como un agente carcinógeno definitivo. Las vías terapéuticas de erradicación de este patógeno se han convertido en menos confiables por su ineffectividad, reacciones adversas y la aparición de cepas resistentes a los antibióticos. Actualmente, existe un notable interés en la búsqueda de alternativas fitoterapéuticas que combatan este agente infeccioso. Con el objetivo de evaluar el efecto *in vitro* de extractos de raíces de *Morus alba* sobre *H. pylori*, se utilizaron 7 variedades e híbridos ('Tigreada', 'Indonesia', 'IZ-40', 'IZ-64', 'IZ-13/6', 'IZ-15/7', 'IZ-56/4'). Las raíces secas fueron pulverizadas y se extrajeron los metabolitos secundarios con etanol comercial y agua destilada por el método de percolación. *H. pylori* fue cultivado en caldo soya triptona y estandarizado a una concentración final de 6×10^8 UFC/m l⁻¹. El bioensayo se realizó en microplacas de 96 pocillos por quintuplicado. El porcentaje de inhibición fue determinado por lectura espectrofotométrica a 630 nm. Se observó el crecimiento bacteriano cualitativo utilizando una solución de azul de metileno. Se empleó el ANOVA de clasificación simple y la prueba de

rangos múltiples de Duncan para la comparación de medias ($p < 0.05$). Tanto los extractos acuosos como los etanólicos mostraron un alto porcentaje de inhibición a las 48 y 72 horas siendo superiores los primeros por encima del 70 %. El uso de productos naturales derivados de raíces de *Morus alba* en el manejo terapéutico contra enfermedades causadas por *H. pylori* podría representar una nueva opción de tratamiento, tanto preventivo como curativo.

Palabras clave: extracto de raíces, *Helicobacter pylori*, *Morus alba*

In vitro* effect of extracts from *Morus alba* roots against *Helicobacter pylori

The bacteria *Helicobacter pylori* colonizes the human gastric epithelium of approximately two thirds of the world population and is responsible for gastritis, peptic ulcer and lymphoma associated to the stomach mucosa. The chronic gastric pathology due to the infection by this microorganism is the prevailing factor of emergence of stomach cancer for which it is considered a definite carcinogenic agent. The therapeutic ways of eradication of this pathogen have become less reliable due to their ineffectiveness, adverse reactions and appearance of resistant strains to antibiotics. At present, there is remarkable interest on the search for phytotherapeutic alternatives that fight this infectious agent. In order to evaluate the *in vitro* effect of extracts from *Morus alba* roots on *H. pylori*, seven varieties and hybrids were used ('Tigreada', 'Indonesia', 'IZ-40', 'IZ-64', 'IZ-13/6', 'IZ-15/7', 'IZ-56/4'). The dried roots were powdered and the secondary metabolites were extracted with commercial ethanol and distilled water by the percolation method. *H. pylori* was cultivated in tryptone-soy broth and standardized at a final concentration of 6×10^8 CFU/ml l⁻¹. The bioassay was conducted on 96-well micro-plates in fivefold. The inhibition percentage was determined by spectrophotometric reading at 630 nm. The qualitative bacterial growth was observed using a solution of methylene blue. The simple classification ANOVA and Duncan's multiple range test for mean comparison ($p < 0.05$) were used. The aqueous as well as the ethanolic extracts showed a high inhibition percentage at 48 and 72 hours, the former being higher over 70 %. The use of natural products derived from *Morus alba* roots in the therapeutic management against diseases caused by *H. pylori* could represent a new treatment choice, preventive as well as healing.

Keywords: *Morus alba*, *Helicobacter pylori*, root extract

T3.6 Application of microsatellite polymorphisms to study the diversity in seed oil content and fatty acid composition in nigerian sesame (*Sesamum indicum* L.) accessions

Friday Nwalo Nweke^{1*}, Benjamin Ewa Ubi², Karl Kunert³

¹Department of Biotechnology, Federal University Ndufu Alike Ikwo PMB 1010 Abakaliki, Ebonyi State, Nigeria. *Friday.nwalo@funai.edu.ng; fridaynwalo@yahoo.com

²Department of Biotechnology, Ebonyi State University, Abakaliki, Nigeria.

³Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, South Africa.

Improving oil yield and a healthy fatty acid profile is a major breeding objective in sesame. In this study, the variability in simple sequence repeat motifs were used to study the diversity in 30 Nigerian sesame accessions in relation to the analyzed variation in oil content and fatty acid composition as a fundamental step towards its genetic improvement. Sesame seed oil content ranged from 40 to 55 % (47.65±2.8 %). Palmitic, stearic, oleic, linoleic and α-linolenic acid are the principal fatty acids with unsaturated/saturated fatty acid ratio of 5:1. Linoleic acid (45.65±1.15 %) and α-linolenic acid (0.3±0.04 %) were the most predominant and least fatty acids, respectively. High genetic variability was found among the accessions with the repeat motifs (TC12 - TC25) generated from two highly informative primer pairs clearly differentiating the 30 accessions into eight Groups. The seed oil yield and fatty acid composition shows that sesame oil is highly valuable for industrial purposes and assured human health. The variability in the accessions based on microsatellite markers was closely related to the variation in oil yield and fatty acid composition, which could be potentially beneficial in efforts towards marker assisted selection for these traits.

Keywords: fatty acid composition, microsatellite polymorphisms, seed oil content, sesame

T3.7 Evaluación de parámetros de crecimiento en *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (ka'a he'ë) bajo condiciones de estrés hídrico

Liz Adolfin Bogado*, Héctor David Nakayama

Laboratorio de Biotecnología. Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas. Dirección General de Investigación Científica y Técnica. Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario de la UNA, San Lorenzo, Paraguay. cemit@rec.una.py
*lizbog09@gmail.com

Existen aproximadamente 90 variedades de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni desarrolladas alrededor de todo el mundo. Esta especie vegetal originaria de Paraguay posee gran relevancia debido a su empleo como edulcorante natural. La variedad clonal 'KH – IAN/VC – 142' (Eirete), se caracteriza por superar a la variedad criolla en su potencial de rendimiento y por su mayor tenor de esteviolglucósidos, principalmente en el contenido de rebaudiósido A, el cual otorga un sabor muy dulce y poco amargo. Dado que la sequía constituye uno de los más importantes estreses abióticos, ya que limita la producción y crecimiento de las plantas, se evaluaron parámetros de crecimiento *in vitro*, plantas de *S. rebaudiana* de la variedad 'KH – IAN/VC – 142', sometidas bajo condiciones simuladas de estrés hídrico. Las mismas fueron obtenidas a partir de cultivo *in vitro* de segmentos nodales en medio de cultivo Murashige y Skoog, utilizando concentraciones de 10.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm de polietilenglicol. Los parámetros como la altura, número y longitud de raíces, área de hojas, masas fresca y seca de los explantes fueron afectados negativamente acelerando el periodo de senescencia conforme al incremento de la concentración de polietilenglicol, demostrando la baja tolerancia de la variedad 'KH – IAN/VC – 142' de *S. rebaudiana* bajo condiciones simuladas de estrés hídrico. Estos resultados posibilitan la aplicación futura en sistemas de selección *in vitro* para la discriminación de genotipos mejorados en base a su tolerancia al estrés hídrico.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, estrés hídrico, polietilenglicol, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

Evaluation of growth parameters in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (ka'a he'ë) under water stress conditions

There are about 90 varieties of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni developed around the world. This plant species native from Paraguay has great importance due to its use as a natural sweetener. The clonal variety 'KH - IAN / VC - 142' (Eirete), is characterized by overcoming the native variety in its performance potential and its greater meaning of steviolglycosides, mainly on the content of Rebaudioside A, which gives a very sweet taste and little bitter. Considering that drought is one of the most important abiotic stresses limiting plant growth, growth parameters were evaluated *in vitro* of *S. rebaudiana* variety 'KH - IAN / VC - 142', under low simulated water stress conditions. These were obtained from *in vitro* culture of nodal segments on Murashige & Skoog, using concentrations of 10.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, 10 ppm and 1 ppm of polyethylene glycol. Parameters such as height, number and root length, leaf area, fresh weight and dry explants were affected negatively accelerating period of senescence under increasing concentration of polyethylenglicol, demonstrating the low tolerance range 'KH - IAN / VC - 142' *S. rebaudiana* under simulated water stress conditions. These results enable the future application *in vitro* selection systems for improved discrimination based on their tolerance to water stress genotypes.

Keywords: drought stress, *in vitro* culture, polyethylenglicol, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

T3.8 Obtención de péptidos sintéticos cíclicos biológicamente activos a partir de *Jatropha curcas*

Rosa M. Rodríguez Calle^{1*}, J. Suárez Hernández¹, Hilda Elisa Garay Pérez², Osvaldo Reyes Acosta²

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Central España Republicana, Perico, Matanzas, Cuba. *rosa.maria@ihatuey.cu

²Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Lisa, La Habana, Cuba. CP 44 280.

Jatropha curcas es una planta originaria de México y América central, perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Dicha planta tiene un potencial considerable por su alto contenido de aceite para la producción de biodiesel, sin embargo debido al contenido de aminoácidos aromáticos en su proteína, es una fuente

importante de péptidos cíclicos bioactivos, los cuales contienen de siete a diez residuos con una proporción alta de aminoácidos hidrofóbicos de gran importancia para aplicaciones farmacológicas. Dichos péptidos poseen actividad citotóxica, inmunosupresora, antimalárica, vasorelajante, además de actividades inhibitoria tirosinasa, acetilcolinesterasa y ciclooxigenasa. Con el objetivo de conocer sus propiedades farmacéuticas fueron diseñados dos péptidos sintéticos a partir del extracto etanólico del látex de *Jatropha curcas*. Ambos péptidos sintéticos fueron caracterizados por RP-HPLC mediante el equipo KNAUER (WellChrom) utilizando las disoluciones TFA/Agua 0.1 % (A) y TFA/Acetonitrilo 0.05 % (B) empleando el gradiente de 5 a 60 % de B en 35 minutos a una longitud de onda de 226 nm y cuantificados mediante TOF MS ES+. Como resultado de la caracterización se obtuvo un octapéptido cíclico ciclo-(Gly¹-Leu²-Leu³-Gly⁴-Thr⁵-Val⁶-Leu⁷-Leu⁸) denominado Jcl1 con un peso molecular de 783.52 Da y un 99.38 % de pureza, así como un nonapéptido cíclico ciclo-(Leu¹-Gly²-Ser³-Pro⁴-Ile⁵-Leu⁶-Leu⁷-Gly⁸-Ile⁹) denominado Jcl2 con un peso molecular de 880.57 Da y un 99.56 % de pureza. La obtención de estos péptidos sintéticos cíclicos forman las bases empleando la química sintética y los enfoques de ingeniería genética para las modificaciones químicas de las moléculas bioactivas, modulando de esta manera sus actividades; así como en la formulación de estrategias para su uso en situaciones prácticas, beneficiando la salud tanto animal como humana y creando una agricultura eficiente, sostenible y amigable con el medio ambiente.

Palabras clave: aminoácidos, *Jatropha curcas*, péptidos sintéticos

T3.9 Obtención y caracterización química de aceites esenciales de flores de *Gliricidia sepium* y propóleo de *Melipona beecheii*

Leydi Fonte Carballo*, Maykelis Díaz Solares¹, Jacqueline Aparecida Takahashi², Aura Maria Blandón Osorio², Inelvis Castro Cabrera¹, Yudit Lugo Morales¹, Nancy Altunaga Pérez¹

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Central España Republicana, CP 44 280, Matanzas, Cuba.
*leydis.fonte@ihatuey.cu

²Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. Laboratório de Biotecnologia y Bioensaios. Av. Antonio Carlos, 6627 CEP 31270-901. Belo Horizonte, MG, Brasil.

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios especiales de amplio uso en las ramas de la industria y la medicina. Se detectan por su olor intenso generalmente agradable, que evoca fragancias de la planta. Por ello, el objetivo fue obtener y caracterizar químicamente mediante cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-EM) los aceites esenciales obtenidos de flores de *Gliricidia sepium* y propóleo de *Melipona beecheii*. Los aceites se obtuvieron mediante arrastre de vapor para el caso de las flores y el propóleo por hidrodestilación. Para la caracterización química se utilizó un equipo GCMS-QP 2010 ULTRA (Shimadzu). Columna: Rxi-1MS 30m x 0.25 mm x 0.25 μ m (Restek). A temperaturas de: 70°C (3min), 3°C/min, hasta 250°C. Inyector: 250°C Split (1:10), utilizando una interface GC-MS a 260°C. Y un detector MS (Impacto electrónico a 70eV) a 260°C. Gas de arrastre: Helio a 2.0 ml/min. Vol. de inyección: 1 μ L. Software de adquisición de datos: GCMS Solution (Shimadzu). Biblioteca espectral: NIST11. Archivos *.qgd. Los resultados indicaron de los 15 compuestos separados en el aceite esencial de propóleo de *M. beecheii*, nueve eran sesquiterpenos (48.38 %) representando la mayor proporción en este aceite, dos monoterpenos (10.75 %), un aldehído benzoico (5.38 %), una cetona aromática (5.38 %), un éster simple (5.38 %) y un epóxido sesquiterpénico (5.38 %). El pico más alto lo alcanzó el sesquiterpeno β -cariofileno (17.95 %), siendo el compuesto mayoritario. Mientras que en el aceite esencial de flores de *G. sepium*, los compuestos identificados fueron todos hidrocarburos: n-Nonacosano (24.7 %) y n-Heptacosano (13.0 %), seguidos en orden por n-Hentriacontano (5.0 %), n-Octacosano (3.1 %) y en menor porcentaje se encontró el n-Triacontano (0.8 %). Se concluye que las clases químicas que predominaron en los aceites fueron los sesquiterpenos, e hidrocarburos, ambos con excelentes actividades antioxidantes y antimicrobianas según se describe en la literatura.

Palabras clave: aceites esenciales, *Gliricidia sepium*, propóleo

Obtainment and chemical characterization of essential oils from *Gliricidia sepium* flowers and propolis from *Melipona beecheii*

Essential oils are special secondary metabolites widely used in the industry and medicine sectors. They are detected by their generally nice intense smell, which evokes fragrances of the plant. For such reasons, the objective of this work was to obtain and chemically characterize through mass gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) the essential oils obtained from *Gliricidia sepium* flowers and propolis from *Melipona beecheii*. The oils were obtained through steam dragging in the case of the flowers and the propolis, by hydrodistillation. For the chemical characterization a piece of equipment GCMS-QP 2010 ULTRA (Shimadzu) was used; column: Rxi-1MS 30m x 0.25mm x 0.25 μ m (Restek); at temperatures of: 70°C (3 min), 3°C/min, up to 250°C; injector: 250°C Split (1:10), using an interphase GC-MS at 260°C; and a MS detector (Electronic impact at 70eV) at 260°C. Dragging gas: helium at 2.0 ml/min. Vol. of injection: 1 μ L. Data acquisition software: GCMS Solution (Shimadzu). Spectral library: NIST11. Files *.qgd. The results indicated that of the 25 compounds separated in the essential oil of propolis from *M. beecheii*, nine were sesquiterpenes (48.38 %) representing the highest proportion in this oil, two monoterpenes (10.75 %), a benzoic aldehyde (5.38 %), an aromatic ketone (5.38 %), a simple ester (5.38 %) and a sesquiterpene epoxide (5.38 %). The highest peak was reached by the sesquiterpene β -caryophyllene (17.95 %), being the main compound. While in the essential oil of *G. sepium* flowers, the identified compounds were all hydrocarbons: n-Nonacosane (24.7 %) and n-Heptacosane (13.0 %), followed in order by n-Hentriacontane (5.0 %), n-Octacosane (3.1 %) and n-Triacontane was found in lower percentage (0.8 %). It is concluded that the chemical classes that prevailed in the oils were sesquiterpenes and hydrocarbons, both with excellent antioxidant and antimicrobial activities, as it is described in literature.

Keywords: essential oils, *Gliricidia sepium*, propolis

T3.10 Actividad antibacteriana y perfil fitoquímico de *Ariocarpus fissuratus* (Engelmann) Shumann (Cactaceae)

Celso Manuel Valencia Castro*, Edgar Gutiérrez Reyes, María del Socorro Linaje, Norma De La Fuente Salcido

Proyecto financiado por el Programa de Desarrollo del Profesorado (PRODEP-SEP) Universidad Autónoma de Coahuila, Escuela de Ciencias Biológicas Carretera Torreón Matamoros, km 7.5 CP 27 104, Torreón, Coahuila, México. *cmanuel53@yahoo.com.mx

Debido al tráfico ilegal del falso peyote (*Ariocarpus fissuratus*), se encuentra en el apéndice I de la Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres y en la NOM-059-SEMARNAT-2010 de México, bajo la categoría de especies en peligro de extinción. A diferencia de otras especies del género *Ariocarpus*, en *A. fissuratus* no existe información de su actividad biológica en microorganismos patógenos. Por este motivo, se consideró importante evaluar la actividad antibacteriana así como el perfil fitoquímico de diferentes extractos de la corona y del tallo-raíz de *A. fissuratus*. Se determinó por tamizaje fitoquímico la presencia de metabolitos y grupos funcionales, así como la actividad antibacteriana de extracciones sucesivas de *Ariocarpus fissuratus*, con un aparato soxhlet y el uso de extractos con solventes en orden por polaridad contra cultivos de *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *S. uberis*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, por el método de difusión en placa. El extracto de hexano de la corona de la planta mostró una prueba positiva para esteroides y terpenos, resultados similares se encontraron con el extracto basado en hexano de tallo-raíz. El extracto basado en éter dio pruebas negativas para todos los grupos. El extracto con cloroformo de la corona de la planta dio positivo para carbohidratos, coumarinas, alcaloides, esteroides y terpenos. Del resto de los extractos, se destacan las pruebas positivas encontradas con etanol para todos los compuestos de interés, seguido por el metanol y la acetona. Los extractos de etanol y metanol de corona y tallo-raíz de la planta, tuvieron un mayor efecto inhibitorio ($p < .05$) contra *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* y *S. uberis*. Los mismos extractos tuvieron un efecto significativo sobre *S. marcescens*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: especies amenazadas, extractos, patógenos

Antibacterial activity and phytochemical profile *Ariocarpus fissuratus* (Engelmann) Schumann (Cactaceae)

Due to the illegal traffic of false peyote (*Ariocarpus fissuratus*), it is found in Appendix I of The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora and the NOM-059-SEMARNAT-2010 Mexico, under the category of species in danger of extinction. Unlike other species of *Ariocarpus*, *A. fissuratus* there are no reports about the antibacterial activity of *Ariocarpus* or *fissuratus* species against pathogenic microorganisms. For this reason, the phytochemical profile of different extracts of the crown and stem-root and the antibacterial activity of *A. Fissuratus* were determined. Here, diverse metabolites and functional groups were detected by phytochemical screening of increasing polarity of organic solvents. Likewise the antibacterial activity was evaluated against *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *S. uberis*, *Serratia marcescens* Nima, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, by well diffusion method. The hexane extract of the crown of the plant showed a positive test for sterols and terpenes, similar results were found with hexane based on stem-root extract, also appears positive for carbohydrates. In ether extract none of the phytochemicals above identified was detected. The chloroform extract of the crown contain carbohydrates, coumarins, alkaloids, sterols and terpenes. Ethanol extracts, show evidence of all the compounds, followed by methanol and acetone. The ethanol and methanol extract of stem-crown and root of the plant, had a greater inhibitory effect ($P < .05$) against *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* and *S. uberis*. These extracts had a significant effect against *S. marcescens*, *E. coli*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: endangered species, extracts, pathogens

T3.11 Recubrimientos bioactivos con mezquite (*Prosopis glandulosa*) con potencial fungitóxico

Norma De la Fuente-Salcido^{1*}, A Pimentel¹, A Valenzuela¹, María del Socorro Linaje Treviño¹, Celso Manuel Valencia Castro¹, JC Castañeda R²

¹Universidad Autónoma de Coahuila-Campus Torreón, Ciencias Biológicas, Bioprospección y Bioprocesos. Blvd. Torreón-Matamoros Km 7.5, Cd. Universitaria. CP 27104, Torreón Coah., México. *normapbr322@hotmail.cpm

²Universidad Tecnológica del Suroeste de Guanajuato, Valle-Huanímaro Km. 1.2, CP 38 400 Guanajuato, México.

En esta investigación se ensayó la actividad antifúngica del extracto de mezquite (EM) (*Prosopis glandulosa*) *in vitro* e *in vivo* y evaluar el potencial fungitóxico para preservar la calidad y el tiempo de vida de frutas y vegetales. El EM obtenido por decocción (500 mg/m l⁻¹) se evaluó *in vitro* (0, 1, 2, 4, 5 %) en agar PDA con 3 µl de suspensión de esporas (1x10⁵ esporas/m l⁻¹) de *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides*, *R. oryzae* y *R. stolonifer*, se incubaron 7 días (30°C). El efecto del EM (5 %) se evaluó *in vivo* en fresas, tomates cherry y zanahorias baby, en cámara húmeda (7 días) a temperatura ambiente (20°C) y en refrigeración (4°C). Se evaluó la eficiencia fungitóxica del EM (5 %) y del quitosano (0, 1, 2, 4 and 5 %) determinando el retraso del crecimiento fúngico. Separadamente se determinó la eficiencia *in vitro* e *in vivo* de recubrimientos bioactivos con quitosano (BPM/MPM) (1, 2, 4 %) y EM (5 %). Los recubrimientos bioactivos formulados con quitosano (BPM) (2 y 4 %), EM (5 %) y glicerol (1 %) como plastificante mostraron el mejor efecto. Los recubrimientos mostraron pHs de 4.0, 4.8 y 5.2 y viscosidad de 63, 164 and 1180 cp. El recubrimiento más efectivo *in vitro* contenía EM (5 %), glicerol (1 %) y quitosano (BPM) (4 %) retardando el crecimiento microbiano de todos los hongos fitopatógenos ensayados. Los efectos microscópicos observados incluyeron ramificación hifal en *C. gloeosporioides*, ensanchamiento e incremento de la densidad hifal en *R. oryzae* y *R. stolonifer*. *In vivo* el recubrimiento fue menos efectivo contra *C. gloeosporioides* (fresa) y en *Rhizopus* se mostró fitopatogenicidad (deshidratación y pudrición blanda) a los 8 y 12 días respectivamente. El impacto de este estudio: indudablemente se evidencia el control biológico de hongos fitopatógenos en frutas y vegetales con recubrimientos comestibles a base de quitosano y extracto de mezquite.

Palabras clave: cubiertas bioactivas, fitopatógenos, mezquite

Bioactive coatings plus mezquite (*Prosopis glandulosa*) with fungitoxic potential

The aim of this research was to assess the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of extract from mezquite (ME) *Prosopis glandulosa* to evaluate the fungitoxic potential to preserve the quality and shelf life of fruits and vegetables. The ME was

obtained by decoction (500 mg/m l⁻¹) and *in vitro* evaluated (0, 1, 2, 4, 5 %) with PDA agar by triplicate with 3 µl spore suspension (1x10⁵ spores/m l⁻¹) of *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides*, *R. oryzae* and *R. stolonifer* and incubated for 7 days (30°C). Also the 5 % of ME was evaluated *in vivo* in strawberries, tomatoes and carrots adding by immersion, deposited in humid chamber for 7 days and incubated at room temperature (20°C) and under refrigeration (4°C). Separately chitosan (0, 1, 2, 4 and 5 %) and ME (5 %) efficiency was tested to determine the fungal growth delay and the efficiency *in vitro* and *in vivo* of a bioactive coating with chitosan (LMW/MMW) (1, 2, 4 %) and ME (5 %). The best bioactive coatings were obtained with 2 and 4 % chitosan (LMW), ME (5 %) and with 1 % glycerol as plasticizer (pH: 4.0, 4.8 and 5.2 and viscosity of 63, 164 and 1180 cp). The coating with 5 % ME, 1 % glycerol, 4 % chitosan was the most effective in the *in vitro* bioassays, fungal growth delay in all the tested fungi. The mains microscopic effects observed were hyphal branching in *C. gloeosporioides*, hyphal swelling in *F. oxysporum* and hyphal density increased in *R. oryzae* and *R. stolonifer*. *In vivo* the coating was less effective against *C. gloeosporioides* (strawberry) and *Rhizopus* showing signs of pathogenicity as dehydration and soft rot at 8 y 12 days respectively. Impact of this study: undoubtedly is evident the biological control of phytopathogenic fungi in fruits and vegetables with edible coatings based on chitosan and mesquite extract.

Keywords: bioactive coating, mesquite, phytopathogenic

T3.12 Efecto del tratamiento térmico y duración del escaldado sobre la concentración de antocianinas en maíz negro

Carmen Díaz*, Marcia Pesántez, Rosa Castro, Lidia Castro

Facultad de Recursos Naturales. Departamento de Fitopatología. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH). Panamericana Sur km 1½. CP 06-01-4703, Riobamba. *chorten28@hotmail.com

Las antocianinas presentes en el maíz negro (*Zea mays* L.) tienen gran importancia como antioxidantes. Sin embargo, solo se emplean en ciertos lugares del mundo, ya sea como fitofármacos mediante extractos, como pigmentos

naturales para alimentos y bebidas o como un postre de temporada en el día de los difuntos, debido a dificultades con su extracción. La finalidad de la presente investigación fue determinar el efecto del tratamiento térmico y la duración del escaldado sobre la concentración de antocianinas. Se evaluaron tres tratamientos térmicos (escaldado ordinario, escaldado por vapor de agua y microondas) y tres tiempos (3, 5 y 7 minutos). Los resultados indicaron que el tratamiento de escaldado en microondas, durante los tres tiempos, a una potencia de 160W, resultó ser el mejor tratamiento para la prevalencia de antocianinas en el maíz negro, ya que en estas condiciones la pérdida de antocianinas fue sólo del 8, 19 y 26 %, respectivamente. De forma contraria, el tratamiento por escaldado ordinario produjo la mayor pérdida de antocianinas (hasta el 71 %). En el tratamiento de escaldado por vapor de agua mostró resultados intermedios. La pérdida de antocianinas fue directamente proporcional al tiempo de escaldado, e independiente del método de escaldado que se empleó. El mejor tratamiento de escaldado para la conservación de antocianinas en el maíz negro fue el escaldado en microondas por un tiempo de tres minutos a una potencia de 160W.

Palabras clave: metabolitos secundarios, propiedades antioxidantes, *Zea mays*

Effect of heat treatment and duration of scalding on anthocyanins concentration in black corn

Anthocyanins present in the black maize (*Zea mays* L.) are of great importance as antioxidants. However, only used in certain parts of the world, either as herbal medicines by extracts, and natural pigments for foods and beverages or as a seasonal dessert on the day of the dead, because of difficulties with extraction. The purpose of this research was to determine the effect of heat treatment and duration of blanching on the concentration of anthocyanins. Three thermal treatments (ordinary scalding, scalding with water vapor and microwave) and three times (3, 5 and 7 min) were evaluated. The results indicated that the best treatment for the prevalence of anthocyanins in black corn was microwave blanching, at 160W power during the three times. In these conditions the loss of anthocyanins was only 8, 19 and 26 %, respectively. In contrary, the treatment by ordinary blanching produced the greatest loss of anthocyanins (up to 71 %). The scalding with water vapor showed intermediate results.

Anthocyanins loss was directly proportional to the scalding time, and independent of the method used. The best scalding treatment for anthocyanins conservation was microwave for three minutes at 160W power.

Keywords: antioxidant properties, secondary metabolites, *Zea mays*

T3.13 Efecto de intensidad luminosa en la concentración de compuestos con actividad antioxidante en hojas de *Moringa oleifera*

David E. López-Martínez, Erika Ortega-Jiménez, Daniel A. Jacobo-Velázquez, Juan I. Valiente-Banuet*

Centro de Biotecnología, Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos, Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey Ave. Eugenio Garza Sada 2 501 Sur, Monterrey, NL 64 849, México. *valiente@itesm.mx

El árbol de moringa (*Moringa oleifera* L.) contiene altos niveles de compuestos con capacidad antioxidante. Dentro de estos compuestos destacan los ácidos fenólicos y los carotenoides, que se encuentran distribuidos en la totalidad de la planta (raíces, tallos, hojas, flores y semillas). La producción de estos compuestos se ve afectada por los cambios en las condiciones ambientales en las que se desarrollan los cultivos. El objetivo del trabajo consistió en analizar la respuesta de los árboles de Moringa a diferentes tratamientos de intensidad luminosa. Para tal fin se establecieron cuatro macro túneles de malla sombra (HDPE), cada uno con diferente nivel de sombreado: 0 % (testigo), 35 %, 50 % y 80 %, con 12 árboles de moringa cada uno. En cada tratamiento se realizaron mediciones de área foliar, crecimiento, y curvas de actividad fotosintética de tres plantas al azar. Se realizaron dos colectas de hojas (50 g) de tres árboles al azar por tratamiento, la primera en marzo del 2015 y la segunda en septiembre de 2015. Las hojas recolectadas fueron liofilizadas, molidas y almacenadas bajo condiciones de ultra-congelación (-80°C). Los compuestos antioxidantes fueron identificados y cuantificados por medio de HPLC-DAD. Los tratamientos de intensidad solar tuvieron efectos sobre los niveles de crecimiento vegetativo de los árboles y las concentraciones de compuestos antioxidantes en el tejido foliar. El crecimiento de los árboles y la actividad fotosintética variaron entre el grupo

testigo y los niveles de sombreado. Los compuestos fenólicos y carotenoides se encontraron en mayor concentración en los árboles expuestos a menor intensidad luminosa. Las variaciones que se presentaron entre los tratamientos muestran que los árboles de moringa tienen una respuesta a diferentes condiciones ambientales, posiblemente como resultado de los mecanismos de defensa de los árboles a los cambios en intensidad luminosa estrés abiótico presente.

Palabras clave: ácidos fenólicos, carotenoides, estrés abiótico, HPLC-DAD

Effects of luminous intensity on the concentration of compounds with antioxidant activity on *Moringa oleifera* L. leaves

The Moringa tree (*Moringa oleifera* L.) has been reported to contain high levels of compounds with antioxidant activity, including carotenoids and phenolic acids. These compounds are distributed throughout the plant (leaves, stems, pods, roots, and flowers). The production of these compounds is affected by the variations presented in the environmental conditions on which the trees develop. The objective of this study was to analyze the response of Moringa trees to different light intensity treatments. In order to do so, four shaded tunnels of HDPE were established with at different shading levels: 0 % (control), 35 %, 50 % and 80%, each containing 12 moringa trees. Foliar samples, stem growth and photosynthetic activity measurements were carried for each treatment, on three randomly selected trees. 50 g of leaf tissue was collected from three random trees, on two independent collects: one on March 2015 and the other on September 2015. The collected material was lyophilized, grounded to a powder and ultra-frozen (-80°C). Phenolic acids were extracted from the leaves with methanol, and carotenoids were extracted with acetone. The compounds with antioxidant activity were identified and quantified with an HPLC-DAD. Light intensity treatments had a significant effect on the growth and development, and the concentration levels of the antioxidant compounds in leaves of moringa trees. The growth and photosynthetic activity of the trees measured varied between the witness group and each of the different treatments. Phenolic acids and carotenoids concentration were found in greater concentration on the Moringa trees exposed to a lesser light intensity. The variation amongst treatments shows that moringa trees have a measurable response to

varying environmental conditions, possibly as a result of a defense mechanism by the trees to the presence of abiotic stress.

Keywords: abiotic stress, carotenoids, HPLC-DAD, phenolic acids

T3.14 Efecto antifúngico *in vitro* de exudados foliares de *Nicotiana tabacum* L. frente a hongos y oomicetos patógenos

Erinelvis Rodríguez^{1*}, Yanelis Capdesuñer², Maribel Rivas², Martha Hernández², Madelin Gallo¹

¹UCTB Estación Experimental de Cabaiguán. Sancti Spíritus. Cuba.

*investigador3@eetcab.co.cu

²Laboratorio de Ingeniería Metabólica, Centro de Bioplasmas. CP 69 450.

Los productos naturales derivados de metabolitos secundarios son una alternativa para el control de microorganismos que ocasionan enfermedades. El tabaco es una planta considerada modelo de la familia Solanácea y muy conocida por presentar compuestos tóxicos como mecanismos de defensa, que la hacen atractiva para estos fines. La presente investigación se realizó con el objetivo de obtener extractos crudos a partir de exudados foliares de accesiones de tabaco con diferentes solventes y determinar su efecto *in vitro* frente a microorganismos que afectan cultivos de importancia agrícola. Se evaluaron comparativamente los extractos obtenidos a partir de solventes con polaridades similares (Etanol 90 %, Metanol, Diclorometano, Acetato de etilo y n-Butanol). La actividad antifúngica se evaluó frente a cuatro patógenos por el método de difusión en agar. Se seleccionó el Etanol 90 % como solvente en sustitución del Diclorometano para la obtención de extractos crudos. Todos los extractos mostraron actividad antifúngica frente: *Alternaria alternata* y *Rhizoctonia solani*. *Fusarium graminearum* solo se inhibió en presencia de extractos de Nic 1015, CE, SNN, BHmN, Nic 1017 y Nic 1061, mientras que *Phytophthora infestans* por CE, Nic 1019, BHmN, Nic 1003 y Nic 1061. Los extractos de mayor actividad antifúngica (hongos y oomiceto) fueron los de las accesiones CE, BHmN, Nic 1061 y la SNN. Los resultados sugieren el uso potencial de los extractos etanólicos obtenidos a partir de las accesiones Nic 1015, Nic 1061, CE, BHmN, SNN y Nic 1019

frente a hongos y el oomiceto evaluado como un efectivo agente para la protección de cultivos.

Palabras clave: actividad, extractos, metabolitos secundarios, tabaco

***In vitro* antifungal effect of tobacco leaf exudates against two bacterial plant pathogens**

Natural products are an alternative to control that cause diseases in crops. The tobacco is a plant considered model of the family Solanacea and very well-known to present toxic compounds as defense mechanisms that make it attractive for these ends. The present investigation was carried out with the objective of to obtain raw extracts starting from having perspired foliares of agreements of tobacco with different solvents and to determine its effect *in vitro* in front of microorganisms that affect cultivations of agricultural importance. The extracts obtained starting from solvents with similar polarities were evaluated comparatively (Ethanol 90 %, Methanol, Diclorometano, ethyl Acetate and n-Butanol). The activity antifungica was evaluated in front of four patógenos by the diffusion method in agar. The Ethanol 90 % was selected like pay in substitution of the Diclorometano for the obtaining of extracts crudos. Todos the extracts they showed activity antifúngica front: It would alternate alternata and Rhizoctonia solani. Fusarium alone graminearum was inhibited in presence of extracts of Nic 1015, CE, SNN, BHmN, Nic 1017 and Nic 1061, while Phytophthora infestans for CE, Nic 1019, BHmN, Nic 1003 and Nic 1061. The extracts of more activity antifúngica (mushrooms and oomiceto) they were those of the agreements CE, BHmN, Nic 1061y the SNN. The results suggest the potential use of the extracts etanólicos obtained starting from the agreements Nic 1015, Nic 1061, CE, BHmN, SNN and Nic 1019 in front of mushrooms and the oomiceto evaluated as an effective agent for the protection of cultivations.

Keywords: activity, extracts, secondary metabolites, tobacco

T3.15 Concentración mínima letal de higromicina B en la formación de callos y multiplicación de brotes de *Digitalis purpurea* L.

Elizabeth Kairúz Hernández-Díaz^{1,2}, Naivy Pérez-Alonso², Alina Capote², Anabel Pérez², Elio Jiménez², Borys Chong-Pérez^{2*}

¹Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *boris@ibp.co.cu.

Las plantas del género *Digitalis* se caracterizan por producir cardenólidos, que se emplean como medicamentos a nivel mundial en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. En investigaciones anteriores se desarrolló un protocolo de transformación de discos foliares de *Digitalis purpurea* L., en el cual se obtuvieron plantas no transformadas (escapes) luego del proceso de selección con genética. Consecuentemente, es necesario desarrollar un esquema de selección más eficiente en el cual se utilice otro agente selectivo. El objetivo de este trabajo fue seleccionar la concentración mínima letal de higromicina B en el proceso de formación de callos y multiplicación de brotes de *D. purpurea*. Para ello se evaluó el efecto de las concentraciones de 3-15 mg l⁻¹ de este antibiótico en discos foliares, luego de 28 días en medio de cultivo semisólido de formación de callos. Así como, el efecto de las concentraciones de 25-100 mg l⁻¹, en medio de cultivo de multiplicación de brotes, durante 30 días. La mínima concentración a la cual se produjo la mortalidad del 100 % del tejido fue de 12 mg l⁻¹, en medio de cultivo para la formación de callos y de 75 mg l⁻¹ en medio de cultivo de multiplicación de brotes, esta última luego de no menos de 30 días. El esquema de selección propuesto se recomienda para futuros trabajos de transformación genética en esta especie.

Palabras clave: cardenólidos, *hpt*, selección, transformación genética

Minimal lethal concentration of hygromycin B in calli induction and shoot multiplication process of *Digitalis purpurea* L.

The plants of the genus *Digitalis* are characterized by the production of cardenolides, drugs widely used worldwide in the treatment of heart failure. In previous research a transformation protocol was

developed from leaf disc of *Digitalis purpurea* L., using geneticin as selection marker. However some escapes in the selection process were obtained. So it is necessary to develop a more efficient selection scheme using another selective agent. Therefore, the aim of the present research was to select the minimum lethal concentration of hygromycin B during callus induction and shoots multiplication of *D. purpurea*. For callus induction we studied five concentrations of hygromycin B (3, 6, 9, 12, 15 mg l⁻¹) during 28 days. Besides, the effect in shoot multiplication of four concentrations of hygromycin B (25, 50, 75, 100 mg l⁻¹) was studied during 30 days. The minimal lethal concentration for callus formation was 12 mg l⁻¹. In the case of shoot multiplication, 100 % mortality was showed at 75 mg l⁻¹ strictly after 30 days. The proposed selection scheme is recommended for future work at genetic transformation in this species.

Keywords: cardenolides, genetic transformation, *hpt*, selection

T3.16 Estabilidad genética de plantas *in vitro* de *Digitalis purpurea* L. regeneradas mediante organogénesis directa

Borys Chong-Pérez¹, Randel Martín¹, Alina Capote¹, Anabel Pérez¹, Mirtha Mayra González², Naivy Pérez-Alonso^{1*}

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5,5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *naivy@ibp.co.cu

²Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Facultad de Farmacia. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

Digitalis purpurea L., es una especie del género *Digitalis* que se destaca por su importancia medicinal. Debido al potencial farmacológico de los cardenólidos, metabolitos presentes en la planta, se han hecho consistentes esfuerzos por desarrollar estrategias *in vitro* para su producción. Sin embargo, no se refieren estudios de estabilidad genética que avalen el uso de las plantas obtenidas por métodos biotecnológicos en esta especie. El presente trabajo tuvo como objetivos evaluar la estabilidad genética de las plantas *in vitro* de *D. purpurea* obtenidas por organogénesis directa. Se analizaron fenotípicamente las plantas obtenidas y se

compararon con las plantas que le dieron origen. El análisis molecular se realizó mediante marcadores de tipo RAPD. Las variables morfológicas evaluadas (altura y número de hojas por planta) permitieron la caracterización fenotípica de las plantas regeneradas y las que le dieron origen sin diferencias significativas entre las mismas. Las hojas de las plantas mostraron una morfología tipo escasamente ovada en más del 90 % de los casos analizados, característica de la especie. Se identificó un total de 60 fragmentos, con un 88.04 % de monomorfismo en las diez combinaciones de cebadores realizadas, lo cual es un indicador de la alta homogeneidad genética entre las plantas obtenidas por cultivo *in vitro* mediante el empleo de 0.1 mg l⁻¹ de ANA y 3.0 mg l⁻¹ de 6-BAP. Mediante los marcadores moleculares tipo RAPD fue posible corroborar que la homología fenotípica de las plantas obtenidas vía organogénesis directa, se corresponde con la estabilidad genética detectada. Esto permite identificar al método de regeneración como una tecnología viable para la propagación de plantas y su empleo en programas de mejoramiento genético para la producción de cardenólidos.

Palabras clave: cardenólidos, estabilidad genética, marcadores moleculares, regeneración directa

Genetic stability of *in vitro*-regenerated plants of *Digitalis purpurea* L. through direct organogenesis

Digitalis purpurea L., is a species of *Digitalis* genus which is known for its medicinal importance. Because of the pharmaceutical potential of cardenolides have been made consistent efforts to develop strategies for their *in vitro* production. However, no genetic stability studies to support the use of plants obtained by biotechnological methods in this species. This study aimed to evaluate the genetic stability of *in vitro*-regenerated plants of *D. purpurea* through direct organogenesis. The plants obtained were phenotypically analyzed and compared with the mother plants. The molecular analysis was assessed using RAPD marker. Morphometric variables evaluated (height and number of leaves per plant) allowed the phenotypic characterization of the regenerated plants and those that gave rise to no significant differences between them. The leaves showed a poorly ovate type morphology in more than 90 % of the analyzed plants, characteristic of the species. A total of 60 fragments were identified, with 88.04 % of

monomorphism using ten primer combinations, which is an indicator of high genetic homogeneity between plants grown in culture *in vitro* by using 0.1 mg l⁻¹ NAA and 3.0 mg l⁻¹ 6-BAP. Using RAPD was possible to corroborate that phenotypic homology plants obtained via direct organogenesis, it corresponds to the genetic stability detected. This identifies the method of regeneration as a viable technology for the propagation of plants and their use in breeding programs for the cardenolides production.

Keywords: cardenolides, direct organogenesis, genetic stability, molecular marker

T3.17 Organogénesis directa a partir de segmentos foliares de *Digitalis purpurea* para fines farmacéuticos

Naivy Pérez-Alonso, Randel Martín, Alina Capote, Anabel Pérez, Luis Rojas, Borys Chong-Pérez*

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5,5 Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *boris@ibp.co.cu

Las enfermedades cardiovasculares y el cáncer son las primeras causas de muerte a nivel mundial. *Digitalis purpurea* L. es una planta medicinal cuyos metabolitos secundarios son empleados en terapias contra enfermedades cardiovasculares y recientemente se han descrito sus propiedades anticancerígenas y antivirales dando respuesta a las principales causas de muerte a nivel mundial. El presente trabajo tuvo como objetivos obtener plantas *in vitro* de *D. purpurea* a partir de segmentos foliares, con el uso de los reguladores de crecimiento 6-bencilaminopurina (6-BAP) y el ácido naftalenoacético (ANA). Además determinar si el polvo de sus hojas cumple con especificaciones de calidad según la Farmacopea Británica (BP). Se determinó que mediante el empleo de 0.1 mg l⁻¹ de ANA y 0.3 mg l⁻¹ de 6-BAP se puede obtener a los 42 días de cultivo brotes mediante el proceso morfogénico de organogénesis directa en el 96 % de los explantes, con un promedio de 18.86 brotes/explante. Mientras, el análisis tanto de las cenizas totales como el de las insolubles en ácido clorhídrico reveló valores inferiores al máximo valor aceptado (12 y 5) respectivamente. El estudio de las especificaciones de calidad demostró que el polvo cumple con requerimientos de la BP. Los resultados obtenidos podrán ser

empleados en la propagación *in vitro*, el mejoramiento genético de la especie y en la producción de polvo de hoja de *Digitalis* con fines farmacéuticos.

Palabras clave: cardenólidos, especificaciones de calidad, organogénesis directa, reguladores de crecimiento

Direct Organogenesis from foliar segments of *Digitalis purpurea* to pharmacology purposes

The cardiovascular and cancer diseases are the first causes of death at world level. *Digitalis purpurea* L. is a medicinal plant whose secondary metabolites are employed in therapies against cardiovascular diseases. Moreover, anticancer and antiviral properties have been described recently. The present work had as objectives to obtain *in vitro* plants of *D. purpurea* from foliar segments, with the use of growth regulators 6-benzylaminopurine (6-BAP) and naphthalene acetic acid (NAA). Furthermore, to determinate if the derived dried powder from leaf fulfill with quality specifications of British Pharmacopeia (BP). It was determined that after 42 days 96 % of the explants showed a direct organogenesis morphogenetic process, with an average of 18.86 shoots per explant using 0.1 mg l⁻¹ NAA and 0.3 mg l⁻¹ 6-BAP. As well, the analysis of total and insoluble ash in hydrochloric acid revealed values below the maximum accepted value, (12 and 5) respectively. Although, quality specification analysis demonstrated that the powder fulfill with BP requirements. The obtained results can be employed in the *in vitro* propagation, genetic improvement of the specie and in the production of *Digitalis* dried leaf powder with pharmaceutical purposes.

Keywords: cardenolides, direct organogenesis, growth regulators, quality specification

T3.18 Efecto de agentes selectivos en la regeneración de plantas de *Digitalis purpurea* L. vía organogénesis directa

Anabel Pérez¹, Borys Chong-Pérez¹, Randel Martín¹, Alina Capote¹, Elizabeth Kairúz Hernández-Díaz², Naivy Pérez-Alonso^{1*}

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5,5 Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *naivy@ibp.co.cu

²Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Facultad de Farmacia. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

La transformación genética constituye una estrategia biotecnológica que pudiera utilizarse para incrementar la producción de cardenólidos en el género *Digitalis*. Sin embargo, es necesario, en dependencia del blanco, plastídico o nuclear, adecuados sistemas de regeneración y un esquema de selección. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la concentración mínima letal de agentes selectivos para un esquema de selección de plantas regeneradas mediante organogénesis directa en *Digitalis purpurea*. Se emplearon la espectinomycin y estreptomycin (0, 25, 50, 75, 100, 300, 500 y 700 mg l⁻¹), G-418 (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 mg l⁻¹) y la higromycin B (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 mg l⁻¹) como agentes selectivos a utilizar en los procesos de transformación genética plastídica y nuclear. Las concentraciones mínimas letales fueron 300 mg l⁻¹ para estreptomycin, 10 mg l⁻¹ higromycin B, 20 mg l⁻¹ G-418 y la espectinomycin requiere nuevos estudios. Los resultados descritos podrán ser empleados para los procesos de transformación genética como una herramienta para el mejoramiento genético de la especie.

Palabras clave: agentes selectivos, antibióticos, cardenólidos, organogénesis directa

Effect of selective agents on plants regeneration of *Digitalis purpurea* via direct organogenesis

Genetic transformation is a biotechnology strategy that could be used to increase production of cardenolides in the *Digitalis* genus. However, it is necessary, depending on the target, plastid or nuclear suitable regeneration system and a selection scheme. This study aimed to determine the minimum lethal concentration of selective agents for a selection scheme of regenerated plants of *Digitalis purpurea* by direct organogenesis. Spectinomycin and streptomycin (0, 25, 50, 75, 100, 300, 500 and 700 mg l⁻¹), G-418 (0, 5, 10, 20, 30, 40 and 50 mg l⁻¹) and hygromycin B (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 and 70 mg l⁻¹) were used as selective agents to be used in the processes of nuclear and plastid genetic transformation. The minimum lethal concentrations were 300 mg l⁻¹ streptomycin, 10 mg l⁻¹ hygromycin B, 20 mg l⁻¹ G-418 and spectinomycin requires further study. The results described can be used for genetic transformation

processes as a tool for genetic improvement of the species.

Keywords: antibiotic, cardenolides, direct organogenesis, selective agents

T3.19 Micropropagación de *Stevia rebaudiana* variedad 'Morita II' en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT®) para la obtención de biomasa rica en esteviol glucósidos

Karel Vives Hernández*, Yarianne Lezcano Más, Danilo Pina, Arturo Matos Ruiz, Oscar Concepción Laffite, Maritza Escalona Morgado

Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila (UNICA). Carretera a Morón Km. 9. CP 69450. Cuba. Tel 053 33 224026.

La *Stevia rebaudiana* Bertoni, es una herbácea perenne originaria de Paraguay. En sus hojas se sintetizan glucósidos de esteviol hipocalóricos que pueden endulzar hasta 300 veces más que la sacarosa. La multiplicación por semillas presenta bajo porcentaje de germinación y alta heterogeneidad, debido a esto la micropropagación de *Stevia* ha mostrado ser un método que garantiza alta eficiencia y estabilidad genética; sin embargo, el empleo de sistemas semi-automatizados que permita la obtención de un mayor número de plantas a costos de producción más bajos es limitado. Para la obtención de plantas de alto valor morfofisiológico se estableció un protocolo de propagación. Se determinó la factibilidad de BIT® durante la fase de multiplicación. Se partió de segmentos nodales procedentes del cultivo en medio de cultivo semisólido MS con 0.25 mg l⁻¹ de BA. Se evaluó el efecto de tres frecuencias de inmersión (6, 8 y 12 horas), sobre las variables: número de brotes/explante, número de entrenudos/explante, número de hojas, longitud del brote, masa fresca y masa seca. El mayor número de nudos por explante (17) y número de hojas de los brotes (35) se alcanzó a la frecuencia de cada 12 horas, con diferencias significativas del resto de los tratamientos. Además se logró la mayor masa fresca (178.5 g) sin diferencias significativas con los brotes expuestos a la frecuencia de cada 6 horas. Estos sistemas podrían ser una alternativa factible para obtener biomasa rica en glucósidos con potencialidades de usos en la alimentación y la salud.

Palabras clave: frecuencias de Inmersión, glucósidos de esteviol, heterogeneidad, morfofisiológico

***Stevia rebaudiana* (B), micropropagation, 'Morita II' variety in Temporary Immersion Bioreactors (BIT®) for obtaining rich steviol glycosides biomass**

Stevia rebaudiana Bertonii is a perennial herb native to Paraguay. The multiplication by seed is not recommended for commercial production because of the low percentage of germination and high heterogeneity. The *Stevia* micropropagation has proven to be a method that ensures high efficiency and genetic stability; however use of semiautomated systems that allow obtaining a larger number of plants at lower production costs, is limited. To obtain morphophysiological high value plants a propagation protocol was established. The feasibility of using BIT® during the multiplication phase was determined. It began with nodal segments from cultivation in semisolid MS with 0.25 mg l⁻¹ BA. The effect of three immersion frequencies (6, 8 and 12 hours) were evaluated on the variables: number of shoots / explant, number of internodes / explant, number of leaves, shoot length, fresh weight and dry weight. The largest number of shoots per explant (17) leaves per shoot (35) was reached at a frequency of every 12 hours, with significant differences from other treatments. In addition the largest fresh mass (178.5 g) with no significant differences with buds was achieved at the frequency of every 6 hours. These systems could be a feasible for reaching biomass glycosides with potential alternative uses in food and health.

Keywords: immersion frequencies, heterogeneity, morphophysiological, steviol glycosides

T3.20 Efecto de la composición proximal de variedades de *Morus alba* en el crecimiento de *Bombyx mori*

Marlene Prieto^{1*}, Maykelis Díaz¹, María del C. Pérez², Dayron Martín³

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Perico. Matanzas. Cuba.
*marlene.prieto@ihatuey.cu

²Instituto de Ciencia Animal. Habana. Cuba.

³Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Habana. Cuba.

Las hojas de morera (*Morus* sp.) constituyen la fuente de alimento tradicional y casi exclusiva de *Bombyx mori*. La calidad nutricional tiene gran influencia en el desempeño del gusano de seda, en todas las etapas de su desarrollo; de estas se obtienen los nutrientes y el agua necesarios para crecer y desarrollarse. La composición química de la hoja de cada variedad de morera está estrechamente relacionada con el crecimiento de la larva. Se estudiaron tres variedades de *Morus alba*, (Tigreada, Universidad y Yu-62) con el objetivo de determinar la composición proximal y la incidencia en el crecimiento de larvas del polihíbrido Chul Tai-6. Se utilizaron hojas maduras para el análisis y la alimentación. Se estimaron los indicadores de materia seca (MS), humedad (H), fibra bruta (FB), proteína bruta (PB), calcio (Ca), fósforo (P), potasio (K) y ceniza (Cen) utilizando un diseño completamente aleatorizado (tres réplicas/variedad de 100 gusanos de cada una). Se midió el peso de la larva el primer y el quinto día de la quinta edad y el crecimiento promedio de 1 gusano/día. Se compararon los valores promedio de las diferentes variables mediante un ANOVA simple, seguido del Test de Tukey, con 0.05 % de significación. El porcentaje de H y de PB resultó mayor para la Yu-62 (75.9 % y 20.10% respectivamente); no hubo diferencias significativas entre el porcentaje de FB. La variedad Tigreada presentó valores significativamente altos de cenizas (14.4) y P (1.64). Las larvas alimentadas con Yu-62 lograron la mayor tasa crecimiento relativo (T.Cr) (638.95 ± 114.2), y fue menor en las que se alimentaron con Tigreada (466.59 ± 87.97). Se concluye que la variedad Yu-62 presentó los mejores caracteres bromatológicos y mayor TCr del gusano de seda, por lo que se recomienda su utilización como variedad promisorio para la sericultura en Cuba.

Palabras clave: análisis proximal, *Bombyx mori*, *Morus alba*

Effect of the proximal composition of *Morus alba* varieties on the growth of *Bombyx mori*

The mulberry (*Morus* sp.) leaves constitute the traditional and almost exclusive food source for *Bombyx mori*. The nutritional quality has high influence on the performance of the silkworm, in all the stages of its development; from them the worms obtain the necessary nutrients and water to grow and develop. The chemical composition of

the leaf of each mulberry variety is closely related to the growth of the larva. Three *Morus alba* varieties (Tigreada, Universidad and Yu-62) were studied in order to determine the proximal composition and the incidence on the larval growth of the polyhybrid Chul Tai-6. Mature leaves were used for the analysis and feeding. The dry matter (DM), humidity (H), crude fiber (CF), crude protein (CP), calcium (Ca), phosphorus (P), potassium (K) and ash (Ash) indicators were estimated, using a completely randomized design (three replications/variety of 100 silkworms each). The weight of the larva on the first and fifth day of the fifth instar and the average growth of 1 worm/day were measured. The average values of the different variables were compared through a simple ANOVA, followed by Tukey's test, with 0.05 % of significance. The percentage of H and CP were higher for Yu-62 (75.9 and 20.10 %, respectively); there were no significant differences among the CP percentages. The Tigreada variety showed significantly high ash (14.4) and P values (1.64). The larvae fed Yu-62 achieved the highest relative growth rate (RGR) ($638.95^{\circ} \pm 114.2$), and it was the lowest in the larvae that consumed Tigreada ($466.59^{\circ} \pm 87.97$). It is concluded that the variety Yu-62 showed the best bromatological traits and the highest RGR, for which its use as promising variety for sericulture in Cuba is recommended.

Keywords: *Bombyx mori*, *Morus alba*, proximal analysis

T3.21 Métodos biotecnológicos para propagar *Geoffroea decorticans* (Gill ex Hook) Burk, planta usada en la medicina popular

Yemeys Quirós^{1*}, Reinaldo Trujillo Sánchez¹, NA Ochoa², E Quiroga², Martha Hernández¹

¹Laboratorio de Ingeniería Metabólica. Centro de Bioplasmas, Universidad Máximo Gómez Báez de Ciego de Ávila, Cuba. *yemeys@bioplasmas.cu

²Laboratorio de Biomateriales, Instituto de Física Aplicada (INFAP) UNSL - CCT-San Luis, Argentina.

Geoffroea decorticans (Gill ex Hook) Burk., planta conocida como Chañar, es originaria de América del Sur y se utiliza en la medicina popular por su virtudes emolientes, balsámicas, antitusivas y expectorantes. En la literatura se confirma la presencia en sus órganos de varios flavonoides

del grupo de las quercitinas, con reconocida actividad antioxidante. Sus semillas se caracterizan por tener un alto contenido de ácidos grasos insaturados (oleico y linoleico). El presente estudio se realizó con el objetivo de establecer un protocolo de propagación *in vitro* de esta planta a fin de extraer metabolitos secundarios y potenciar su uso en la medicina y la agricultura en países latinos. Se evaluó la germinación *in vivo* e *in vitro*, de semillas escarificadas y sin escarificar. Los mejores resultados de la germinación se obtuvieron para las semillas grandes escarificadas (86.6 %). Las plántulas obtenidas se seccionaron, los segmentos nodales se implantaron en medio de cultivo MS (Murashige Skoog, 1962) suplementado con diferentes concentraciones de 6-bencil amino-purina (6BAP). El mejor coeficiente de multiplicación se encontró en el medio de cultivo libre de hormonas. Además se logró el 100 % de germinación a los siete días de semillas escarificadas, colocadas en un medio de cultivo sin hormonas. El material propagado *in vitro* se utilizará como fuente de obtención de compuestos fenólicos y otros metabolitos de interés.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, Chañar, metabolitos secundarios

Biotechnological methods to propagate *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook) Burk, plant used in folk medicine

Geoffroea decorticans (Gillies ex Hook) Burk, known as Chañar is a native plant from South America, used in folk medicine for its emollient virtues, balsamic, antitussive and expectorant. In the literature is recognized the presence in their organs of flavonoids compounds, of quercitin group, with confirmed antioxidant activity. Its seeds are characterized by having a high content of unsaturated (oleic and linoleic) fatty acids. The present study was conducted to establish a protocol for *in vitro* propagation of this plant, to extract secondary metabolites and promote its use in medicine and agriculture in Latin countries. The germination of scarified seed, *in vivo* and *in vitro*, was evaluated. The best germination results were obtained for scarified seeds large (86.6 %). Plantlets were sectioned and nodal segments were implanted in MS culture medium (Murashige Skoog, 1962) supplemented with different concentrations of 6-benzyl amino purine (6BAP). The best multiplication coefficient was found in the culture medium free of hormones. Furthermore, was achieved 100 % of germination to scarified seeds at seven days of placed in a culture

medium without hormones. The "*in vitro*" material obtained would be used as source for obtaining phenolic compounds and other metabolites of interest.

Keywords: Chañar, *in vitro* culture, secondary metabolites

T3.22 Métodos biotecnológicos para la obtención de extractos antraquinónicos de *Morinda royoc* L. y evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro*

Geeisy Angela Cid Valdés*, Reinaldo Trujillo Sánchez, Yemeys Quirós Molina, Maribel Rivas Paneca, Martha Hernández de la Torre

Laboratorio de Ingeniería Metabólica: Centro de Bioplasmas, Universidad Máximo Gómez Báez de Ciego de Ávila. Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km. 9. CP 69 450. Cuba. *geeisyc@bioplasmas.cu

El uso de técnicas de cultivo *in vitro* de plantas, es una alternativa novedosa para la producción de moléculas bioactivas. *Morinda royoc* L. es una especie rica en compuestos fenólicos, de los cuales las antraquinonas son los metabolitos secundarios mayoritarios, con actividades biológicas probadas. Inicialmente, se estableció un protocolo de propagación *in vitro* para facilitar la obtención de antraquinonas bajo condiciones controladas. En este trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos antraquinónicos (obtenidos a partir de raíces de *Morinda royoc* L. cultivadas *in vitro* y de plantas que crecen en ambiente natural) frente a las bacterias *Pectobacterium carotovorum* sub sp. *carotovorum* y *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli* y al hongo *Rhizoctonia solani*. Se empleó el método de microdilución en placas. Los extractos se disolvieron con aproximadamente 3 % de dimetilsulfóxido (DMSO) y se prepararon a una concentración de 4 mg.ml⁻¹. Se realizaron diluciones seriadas desde 1 000 µg.ml⁻¹ hasta 15.63 µg.ml⁻¹. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento frente a cada patógeno. Los extractos procedentes de raíces *in vivo* e *in vitro* fueron efectivos frente a los microorganismos evaluados. Ambos extractos inhibieron totalmente el crecimiento de *R. solani* a concentraciones desde 62.5 a 1 000 µg.ml⁻¹. A 31.25 µg.ml⁻¹ de los extractos se logró el 50 % de inhibición del hongo. A concentraciones entre 250 y 1 000 µg.ml⁻¹ se inhibió del 93.85 al 100 % el crecimiento de *P. carotovorum*. Fueron necesarias concentraciones de 500-1 000 µg.ml⁻¹ para inhibir el crecimiento de

X. campestris p.v. *phaseoli* (87-95 %). Estos resultados permiten proponer el empleo del cultivo *in vitro* como una estrategia válida para obtener metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, antraquinonas, cultivo *in vitro*, porcentaje de inhibición

A biotechnological method for obtaining anthraquinone extracts from *Morinda royoc* L. and evaluation of antimicrobial activity *in vitro*

Use of *in vitro* culture techniques on plants, is a novel alternative for the production of bioactive molecules. *Morinda royoc* L. is specie rich in phenolic compounds, of which the anthraquinones are the major secondary metabolites, with biological activities tested. Initially, an *in vitro* propagation protocol was established to facilitate the production of anthraquinone under controlled conditions. In this work was evaluated the antimicrobial activity of anthraquinone extracts (obtained from roots of *Morinda royoc* L. grown *in vitro* and in plants growing in natural environment) against bacterias *Pectobacterium carotovorum* sub sp. *carotovorum* and *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli* and the fungus *Rhizoctonia solani*. Microdilution method in plates was used. The extracts were dissolved with about 3 % of dimethyl sulfoxide (DMSO) and prepared at a concentration of 4 mg.ml⁻¹. Serial dilutions from 1 000 µg.ml⁻¹ to 15.63 µg.ml⁻¹ were performed. The growth inhibition percentage against each pathogen was calculated. The obtained extracts from roots (*in vivo* and *in vitro*) were effective against microorganisms evaluated. The growth total inhibition of *R. solani* was achieved using concentrations from 62.5 to 1000 µg.ml⁻¹. To concentrations of 31.25 µg.ml⁻¹ it was inhibited the 50 % of fungus growth. Concentrations between 250 and 1 000 µg.ml⁻¹ inhibited between 93.85 to 100 % of growth of *P. carotovorum* sub sp. *carotovorum*. Concentrations between 500 to 1 000 µg.ml⁻¹ were necessary to inhibit the growth (87-95 %), of *X. campestris* p.v. *phaseoli*. These results suggest the use of *in vitro* culture as a valid strategy for obtaining secondary metabolites with antimicrobial activity.

Keywords: anthraquinone, percent inhibition, *in vitro* culture, antimicrobial activity

T 3.23 Extractos fenólicos bioactivos del cultivo *in vitro* de callos de *T. cacao* L.

Janet Quiñones-Gálvez¹, Jorge Molina-Torres³, Yanelis Capdesuñer¹, Reinaldo Trujillo¹, Yemeys Quirós¹, Claudia Linares¹, Maribel Rivas¹, Geeisy Cid¹, Néstor Mora², Rolando Morán², Enrique Ramírez³, Martha Hernández¹

¹Metabolic Engineer Laboratory, Bioplants Center. PO Box 69 450, Cuba. *jquinones@bioplantas.cu

²Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Camaguey. Cuba.

³Laboratorio de Fitobioquímica. CINVESTAD-Irapuato. México.

Las plantas son fuente de metabolitos secundarios con usos potenciales en la agricultura, la alimentación y formulación de medicamentos. Se conoce que los alimentos derivados de *T. cacao* son ricos en productos naturales de alto valor agregado entre los que se destacan los compuestos fenólicos. En el Centro de Bioplantas se desarrollaron un conjunto de experimentos con el objetivo de obtener extractos fenólicos crudos bioactivos a partir del cultivo *in vitro* como alternativa biotecnológica para la obtención de extractos de *T. cacao* L. Para ello, se realizó la extracción y cuantificación de compuestos fenólicos a partir de diferentes órganos de la planta: hojas, flores y semillas de seis clones de *T. cacao* L., con el objetivo de seleccionar, el material de partida para el cultivo *in vitro* de callos embriogénicos y el clon más promisorio teniendo en cuenta el contenido de fenoles. Se determinó la composición química de los extractos obtenidos y se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos crudos de hojas, semillas y callos. Se seleccionó el clon UF677 de *T. cacao* L. y se detectó la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas y antraquinonas en los extractos fenólicos de hojas, semillas y callos. En hojas los compuestos mayoritarios fueron glicitina y genistina, en semillas el clorogénico y la catequina y en callos la gliciteína. Los extractos de callos mostraron la mejor actividad inhibitoria frente a los hongos: *Bipolaris oryzae*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Sarocladium oryzae* y *Fusarium oxysporum* en comparación con los órganos de plantas en ambiente natural.

Palabras clave: callos embriogénicos, clon, gliciteína

Bioactive phenolic extracts from *in vitro* culture of *T. cacao* L callus

Plants are a source of secondary metabolites with potential uses in agriculture, food and drug formulation. It is known that foods derived from *T. cacao* are rich in natural products with high value which include phenolic compounds. In Bioplants Center a set of experiments were performed in order to obtain bioactive crude phenolic extracts from *in vitro* culture as a biotechnological alternative for obtaining extracts of *T. cacao* L. For this purpose, extraction and quantification of phenolic compounds from different organs of the plant: leaves, flowers and seeds of six clones of *T. cacao* L. were performed. The aim of the work was to select the starting material for the *in vitro* culture of embryogenic callus and the most promising clone taking into account the phenolic content. Chemical composition of the extracts was determined and the antimicrobial activity of leaf crude extracts, seeds and callus was evaluated. The cacao clone UF677 was selected and the presence of phenolic acids, flavonoids, coumarins and anthraquinones in phenolic extracts from leaves, seeds and callus was detected. In leaves the main compounds were glicitin and genistin, in seeds, catechin and chlorogenic acid and in calluses glicitein. Callus extracts showed the best inhibitory activity against fungi: *Bipolaris oryzae*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Sarocladium oryzae* and *Fusarium oxysporum* compared to plant organs in natural environment.

Keywords: clone, embriogenic callus, gliciteín

T3.24 Extractos etanólicos de hojas de *Moringa oleifera*. Evaluación de la actividad *in vitro* frente a patógenos de plantas

Claudia Linares*, Yanelis Capdesuñer, Carol Carvajal, Leyanes Díaz, Maribel Rivas, Janet Quiñones, Martha Hernández

Laboratorio de Ingeniería Metabólica· Centro de Bioplantas, Universidad Máximo Gómez Báez de Ciego de Ávila. Ciego de Ávila. Cuba. *claudia@bioplantas.cu

Los productos naturales representan una excelente alternativa para el control de algunos fitopatógenos que pueden llegar a ser altamente destructivos. Las plantas contienen miles de moléculas biológicamente activas que posibilitan el aislamiento de compuestos capaces de reemplazar pesticidas sintéticos y ofrecer seguridad alimentaria y protección al medio

ambiente. En este sentido, la especie *Moringa oleifera* Lam., posee innumerables compuestos químicos de importancia biológica. La presente investigación se desarrolló con el objetivo de obtener extractos vegetales bioactivos a partir de hojas de *Moringa oleifera* para evaluar su efecto nematocida y antimicrobiano. Se realizaron extracciones con etanol 90 % a partir de hojas. Se determinó el rendimiento de la extracción y se cuantificó el contenido de fenoles solubles y proteínas de los extractos. Se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *M. oleifera* frente a los microorganismos fitopatógenos: *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium carotovorum*, *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Stemphylium solani* y *Rhizoctonia solani* y la actividad nematocida frente a *Meloidogyne incognita*. Los extractos obtenidos se caracterizan por tener 20.2 mg·g l⁻¹ de masa seca de fenoles solubles y una concentración proteica de 27.6 mg·g l⁻¹ de masa seca. Para el ensayo antimicrobiano, en todos los casos se logró inhibición del crecimiento superior al 75 %, excepto frente a *P. carotovorum* (48.86 %). El extracto de *M. oleifera* mostró marcada actividad nematocida, se observó el máximo porcentaje de larvas muertas e inhibición de la eclosión de los huevos del nematodo. Los extractos de *Moringa* pueden potencialmente utilizarse para el control de enfermedades de plantas.

Palabras clave: contenido de fenoles, extractos etanólicos, fitopatógenos, *Moringa*, nemátodo

Ethanolic extracts from *Moringa oleifera* leaves. Evaluation of the *in vitro* activity against plant pathogens

Natural products represent an excellent alternative to control some plant pathogens that can become highly destructive. Plants contain thousands of biologically active molecules which allow the isolation of compounds capable of replacing synthetic pesticides and provide food safety and environmental protection. In this regard, the species *Moringa oleifera* Lam., has numerous chemical compounds of biological importance. This research was developed with the aim of obtaining bioactive plant extracts from leaves of *Moringa oleifera* to evaluate its nematocidal and antimicrobial effect. Extractions with 90 % ethanol from leaves were performed. The extraction yield was determined and the soluble phenolic and protein content in extracts were quantified. The

antimicrobial activity of ethanol extract of leaves of *M. oleifera* was evaluated against phytopathogenic microorganisms: *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium carotovorum*, *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Stemphylium solani* and *Rhizoctonia solani* and nematocide activity against *Meloidogyne incognita*. The extracts were characterized by 20.2 mg·g l⁻¹ dry mass of soluble phenolic and a protein concentration of 27.6 mg·g l⁻¹ dry mass. For the antimicrobial assay, in all cases the growth inhibition was superior at 75 %, except for *P. carotovorum* (48.86 %). *M. oleifera* extract showed marked nematocide activity, the maximum percentage of dead larvae and inhibition of hatching of the nematode was observed. *Moringa* extracts can potentially be used to control plant diseases.

Keywords: ethanolic extracts, phenolic content, *Moringa*, nematode, plant pathogens

T 3.25 Efecto de extractos de *Moringa oleifera* Lam. en el enraizamiento y la aclimatización de brotes de *Ananas comosus* L. Merr. cv 'MD2'

Arturo Matos¹, Aurora Pérez¹, Iris Capote¹, Marcos Daquinta¹, Danilo Pina¹, Lelurlys Nápoles³, Yaima Pino³, Leyanes Díaz-López², Claudia Linares², Maribel Rivas², Maritza Escalona¹, Martha Hernández².

¹Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Cuba.

²Laboratorio de Ingeniería Metabólica. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Cuba.

³Laboratorio de Escalado y Transferencia Tecnológica. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila. Cuba.

Los extractos de hojas de *Moringa oleifera* Lam. son ricos en aminoácidos, iones, ascorbato, fenoles, carotenoides y fitohormonas. Esto hace que se utilice para potenciar el crecimiento de algunas plantas. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto acuoso obtenido de hojas de *Moringa* en el enraizamiento *in vitro* y la aclimatización de brotes de piña cv 'MD2'. Se evaluó la sustitución del 5 y 10 % del medio de cultivo de enraizamiento por extracto acuoso. También, se estudió el efecto del tiempo

de imbibición (0, 24, 48 y 72 horas) en diluciones del extracto acuoso (1.4 y 1.8) de las raíces de los brotes previo a la aclimatización. Además, se determinó el efecto del modo de aplicación (foliar o sustrato) de diferentes concentraciones de extracto acuoso (sin diluir y tres diluciones: 1.2, 1.4 y 1.8) a brotes de piña en fase de aclimatización. La sustitución del medio de cultivo de enraizamiento por extracto acuoso 5 % mostró resultados similares al tratamiento control, mientras que la sustitución por extracto acuoso 10 % redujo el número de raíces, la longitud y la masa fresca de los brotes e incrementó el número de hojas. Con la imbibición de las raíces de los brotes de piña por 24 y 48 horas en el extracto acuoso diluido cuatro veces y por 72 horas en extracto acuoso diluido ocho veces se logró el 100 % de supervivencia de los brotes. La aplicación foliar del extracto acuoso diluido ocho veces favoreció significativamente el crecimiento de los brotes luego de seis meses en fase de aclimatización.

Palabras clave: *Ananas comosus*, extractos de hojas, *Moringa*, multiplicación *in vitro*

Effect of extracts of *Moringa oleifera* Lam. in rooting and acclimatization phases of shoots of *Ananas comosus* L. Merr. cv 'MD2'

The *Moringa oleifera* Lam. leaves extracts are rich in amino acids, ions, ascorbate, phenols, carotenoids and plant hormones. This encourages their use to enhance the growth of some plants. The aim of this research was to determine the effect of the aqueous extract obtained from leaves of *Moringa*, on *in vitro* rooting phase and acclimatization of shoots of pineapple cv 'MD2'. Substitution of 5 and 10 % of the rooting culture medium by aqueous extract were evaluated. The effect of imbibition time (0, 24, 48 and 72 hours) of the roots in dilutions of the aqueous extract (1.4 y 1.8) of shoots prior to acclimatization phase was also studied. Furthermore, the effect of application mode (foliar or substrate) of different concentrations of aqueous extract (undiluted and three dilutions 1. 2, 1. 4 y 1.8) to pineapple shoots in acclimatization phase was determined. Replacement of culture medium rooting by aqueous extract 5 % showed similar results to the control treatment, while substitution of culture medium rooting by aqueous extract 10 % reduced the number of roots, length and fresh weight of shoots and increased the number of leaves. With the imbibition of the roots pineapple shoots for 24 and 48 hours in aqueous extract diluted four times

and for 72 hours in aqueous extract diluted eight times, was achieved the 100 % shoots survival. Foliar application of the aqueous extract diluted eight times significantly favored shoot growth after six months in acclimatization phase.

Keywords: *Ananas comosus*, leaf extract, *Moringa*, multiplication

T3.26 Alternativas de obtención de metabolitos secundarios de plantas para potenciar una agricultura ecológica

Martha Hernández*, Yanelis Capdesuñer, Janet Quiñones-Gálvez, Claudia Linares, Geeisy Cid, Reinaldo Trujillo, Carol Carvajal, Aurora Pérez

Laboratorio de Ingeniería Metabólica. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila, Ciego de Ávila, CP 69450, Cuba.
*mhernandez@bioplasmas.cu

Las plantas producen más de 100.000 sustancias de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios, compuestos con un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas. Las plagas y enfermedades causan anualmente severas pérdidas a cultivos agrícolas. En los últimos años se potencia el uso derivados botánicos como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana. Se utilizaron métodos biotecnológicos de obtención de metabolitos secundarios a fin de evaluar la actividad frente a patógenos de plantas. Se obtuvieron exudados foliares, ricos en diterpenos, a partir de 10 líneas no comerciales de *Nicotiana tabacum*. Los ensayos *in vitro* de los metabolitos de tabaco mostraron actividad antimicrobiana frente a ocho bacterias, tres hongos y el oomiceto *Phytophthora infestans*. Se obtuvieron callos de *Theobroma cacao* L., a partir de plantas élites colectadas del Banco de Germoplasma de Baracoa, Cuba. Los extractos fenólicos de callos, ricos en gliciteína, mostraron actividad inhibitoria frente al nematodo *Meloidogyne incognita* y a los hongos *Collectotrichum gloeosporioides*, *Sarocladium oryzae* y *Fusarium oxysporum*. Extractos antraquinónicos (de raíces cultivadas *in vitro* y *ex vitro*) de *Morinda royoc* L., mostraron actividad *in vitro* contra las bacterias *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium carotovorum* y *Rhizoctonia solani*. Se evaluó el efecto nematocida y la acción antimicrobiana de extractos fenólicos de hojas de *Moringa oleifera*. La inhibición del crecimiento fue superior al 75 %

frente a los microorganismos fitopatógenos: *Xanthomonas campestris*, *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Stemphylium solani* y *Rhizoctonia solani*. Se logró una marcada actividad nematocida contra *Meloidogyne incognita*.

Palabras clave: metabolitos secundarios, *Moringa oleífera*, *Morinda royoc*, *Nicotiana tabacum*, *Theobroma cacao*

Alternative to obtain secondary metabolites plants to promote organic farming

Plants produce more than 100,000 substances with low molecular weight known as secondary metabolites, compounds with an important role in mechanism defense of plants. Pests and diseases annually cause severe losses to agricultural crops. In recent years, the botanicals compounds are used as a source of safer pesticides to the environment and human health. Biotechnological methods to obtain secondary metabolites were used to assess the activity against plant pathogens. Leaf exudates, rich in diterpenes, were obtained from 10 non-commercial lines of *Nicotiana tabacum*. Antimicrobial activity of terpenes against 12 phytopathogenic microorganisms (eight bacteria's, three fungi and *Phytophthora infestans* oomycete) was evaluated. Calluses of *Theobroma cacao* L., were obtained, from elites plants collected of Germplasm Bank Baracoa, Cuba. Corn's phenolic extracts, rich in glycitein, showed inhibitory activity against *Meloidogyne incognita* nematode and *Collectotrichum gloeosporioides*, *Sarocladium oryzae* and *Fusarium oxysporum* fungus. Anthraquinone extracts (from roots cultured *in vitro* and *ex vitro*) of *Morinda royoc* L., showed *in vitro* activity against *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium carotovorum* and *Rhizoctonia solani* bacteria's. Nematicide effect and antimicrobial action of phenolic extracts from *Moringa oleífera* leaves was evaluated. The growth inhibition was superior at 75% against the phytopathogenic microorganisms: *Xanthomonas campestris*, *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Stemphylium solani* and *Rhizoctonia solani*. A marked nematicide activity against *Meloidogyne incognita* was achieved.

Keywords: secondary metabolites, *Moringa oleífera*, *Morinda royoc*, *Nicotiana tabacum*, *Theobroma cacao*

T3.27 Simplified DNA isolation protocol for *Gloriosa superba* - a potent medicinal plant

Kuldeep Yadav, Narender Singh*

Department of Botany, Kurukshetra University,
Kurukshetra-136119, Haryana, India.
*nsheorankukbot11@gmail.com;
nsheorankuk@yahoo.com

Isolation of intact and high-molecular mass genomic DNA is an initial and essential step for many molecular biology applications like restriction enzyme fingerprinting, polymerase chain reaction (PCR) etc. The presence of essential oils, polysaccharides, polyphenols and other secondary metabolites in the medicinal plants can hamper and reduce the yield and purity of extracted DNA. *Gloriosa superba* L., (family Colchicaceae) is a perennial, greenish, climbing herb with L-V shaped cylindrical tubers. It is a native to tropical Africa, India and south-eastern Asia. It is widely cultivated throughout the world as a potent medicinal and ornamental plant. The tuber powder has been effectively used against paralysis, rheumatism, snake bite, insect bites, against lice, intermittent fevers, wounds, anti-fertility, gonorrhea, leprosy, piles, debility, dyspepsia, flatulence, haemorrhoids, helminthiasis and inflammations. It is considered as rich source of two major alkaloids namely colchicines and colchicosides. In this protocol, we applied simple modifications to the established modified CTAB-based extraction method for reliable isolation of high molecular weight genomic DNA from the leaves of *G. superba*. The purity of genomic DNA was confirmed by excellent absorbance (A260/A280) ratio which ranged between 1.5 to 2.0 and the DNA concentration was observed between 75 to 308 µg/g of leaves. Complete plantlets of *G. superba* were raised under *in vitro* conditions using tuber explants cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 2.0 mg l⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP) + 0.5 mg l⁻¹ -naphthalene acetic acid (NAA). The PCR amplification using RAPD and ISSR markers from the isolated DNA was optimized to produce clear amplification in all the germplasm tested. Besides being rapid, effective and technically easy, the protocol can also be used for the isolation of genomic DNA from other crop plants too.

Keywords: extraction, genomic DNA, *Gloriosa superba*, ISSR, RAPD

T3.28 Aceleración del crecimiento de *Porphyridium cruentum* con campos magnéticos

Juan Carlos Ferrer Romero^{1*}, Siannah María Mas Diego², George Fernández Duharte³

¹Universidad de Oriente. Avenida de las Américas s/n-Santiago de Cuba, Código Postal 90900-Cuba. jferrer@fiq.uo.edu.cu; jferrer@uo.edu.cu

²Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado.

³Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales.

El alga *Porphyridium cruentum* es una microalga roja con gran potencial en la industria biotecnológica ya que la misma es la fuente fundamental para la obtención de β -ficoeritrina. Este pigmento posee las mejores propiedades cuánticas para su uso en inmunodiagnóstico por fluorescencia. El Laboratorio de Biomodelos y Anticuerpos Monoclonales (Labex) muestra un marcado interés en su obtención, solo que la producción intensiva de esta microalga se hace difícil por su lento crecimiento. En este trabajo se aplicó la acción del campo magnético para la estimulación de su crecimiento realizando un diseño experimental 2 2 y un experimento control, con tres réplicas cada uno. Se empleó inducciones de 600 y 1000 Gauss y tiempos de exposición al campo de 10 y 20 minutos. Para 600 Gauss y 20 minutos se cosechó una cantidad de biomasa 2.15 veces superior con respecto al control. Se obtuvo el gráfico de superficie respuesta para el diseño experimental realizado, tomando como variable dependiente la concentración celular a la hora 168 del proceso fermentativo, arrojando como resultado que para obtener altas productividades de biomasa se necesita combinar inducciones bajas a tiempos altos así como inducciones altas a tiempos de exposición bajos; por último se realizó la purificación de la β -ficoeritrina la cual tuvo una pureza recomendada por el mercado.

Palabras clave: campo magnético, ficoeritrina, *Porphyridium cruentum*

Growth acceleration of *Porphyridium cruentum* with magnetic fields

The microalgae *Porphyridium cruentum* is a red algae with great potential in the biotechnology industry because it is the essential source for

obtaining β -phycoerythrin, a pigment with the best quantum properties for use in immunodiagnostic fluorescence. The Laboratory of Monoclonal Antibodies and Biomodels (Labex), has a marked interest in the production of this substance but the intensive production of this microalgae is made difficult by its slow growth. In this work it was studied the magnetic field action to stimulate growth by a 22 experimental design maintaining a control experiment with three replicates each. Inductions of 600 and 1000 Gauss and field exposure times of 10 and 20 minutes were employed. The best results were achieved for 600 Gauss and 20 minutes yielding 2.15 times the biomass productivity compared to the control. The response surface plot was obtained for the experimental design, using as the dependent variable cell concentration at 168 hours of the fermentation process, yielding that for high productivity of biomass it is necessary to combine low inductions - high exposure time and high inductions - low exposure times. The purification of β - phycoerythrin was performed with the degree of purity recommended by the market.

Keywords: magnetic field, phycoerythrin, *Porphyridium cruentum*

T3.29 Plantas *in vitro* de *Thapsia garganica* como una nueva plataforma de producción de thapsigarginas

Carmen Quiñonero López ^{1*}, Patricia Corral², Franck Michoux², Henrik Toft Simonsen¹

¹Department of Systems Biology, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark (www.bio.dtu.dk)

²Alkion Biopharma SAS, Evry, France (www.alkion-bioinnovations.com)

Las thapsigarginas son sesquiterpen lactonas que se encuentran en *Thapsia garganica* L., una planta mediterránea. Las thapsigarginas son un potente inhibidor de la bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico, que da lugar a una elevación del nivel de Ca^{2+} citoplásmico provocando la muerte celular. Este mecanismo ha sido usado para desarrollar un fármaco contra el cáncer basado en la thapsigargina, actualmente en Fase IIB de ensayos clínicos por GenSpera Ltd. Nuestro trabajo se centra en el desarrollo de plataformas de producción sostenible de esta planta. Para obtener nueva biomasa de *T. garganica*

estudiamos el efecto de diferentes hormonas vegetales, induciendo una respuesta organogénica y estableciendo cultivos *in vitro* (diferenciados e indiferenciados). Brotes obtenidos de los explantos fueron micropropagados en biorreactores de inmersión temporal (BIT).

Palabras clave: nortrilolid, *Thapsia garganica*, thapsigargina

***Thapsia garganica* L. *in vitro* plants as a new production platform of thapsigargins**

Thapsigargins are sesquiterpene lactones isolated from *Thapsia garganica* L., a Mediterranean plant. Thapsigargins are potent inhibitors of the sarco/endoplasmic reticulum Ca^{+2} -ATPase (SERCA) pump, increasing the cytoplasmic levels of free Ca^{+2} and inducing apoptosis. This mechanism was used to develop a Thapsigargin-based cancer drug, currently in Phase IIB clinical trials by GenSpera Ltd. Our current work is focused on the development of sustainable production platforms of this plant. To obtain novel biomass of *T. garganica* we studied the effect of different plant growth regulators (PGRs), inducing organogenic response and establishing *in vitro* cultures (differentiated and undifferentiated). Shoots obtained from explants were micropropagated in temporary immersion bioreactors (TIBs).

Keywords: nortrilolid, *Thapsia garganica*, thapsigargin

T3.30 Procesos organogénicos en *Stevia rebaudiana*

Diego Martínez Rivillas^{1*}, Aura Urrea¹, Elio Jiménez¹, Lucia Atehortua²

¹Universidad CES-Programa de Biología CES-EIA Medellín, Colombia *dmartinez@ces.edu.co

²Universidad de Antioquia. Laboratorio de Biotecnología SIU. Medellín Antioquia

Stevia rebaudiana Bert es una planta perteneciente a la familia Asteraceae, nativa del Paraguay, también conocida como "hierba dulce", "hoja de miel". Produce en sus hojas varios edulcorantes de alta potencia y bajos en calorías que pueden ser entre 30 y 320 veces más dulces que el azúcar sin efectos secundarios de riesgo

para humanos, confiriendo a esta planta gran valor económico en el mercado mundial de los edulcorantes y endulzantes naturales. Esto ha despertado un gran interés por desarrollar programas para su mejoramiento y estudio. Los objetivos de este trabajo fueron establecer un protocolo para la regeneración de plántulas mediante organogénesis directa a partir de segmentos foliares y evaluar el efecto de la longitud de onda lumínica suministrada con LEDs en la inducción de estos procesos organogénicos. Los explantes fueron cultivados en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) con diferentes concentraciones de bencil amino-purina (BAP) sola y en combinación con ácido indol-acético (IAA). La adición de BAP en una concentración de 2.5 mg l⁻¹ al medio de cultivo fue suficiente para inducir una organogénesis directa, con porcentaje de regeneración cercana al 60% y promedios de hasta 5.26 brotes/explante. Se evidenció como el tipo de longitud de onda lumínica (luz) influye en la respuesta organogénica. La longitud de onda lumínica amarilla proveída por LEDs, aumentó la frecuencia de formación de brotes y redujo el tiempo respuesta, mientras la luz azul causó una disminución en los eventos organogénicos en comparación con los resultados obtenidos cuando los explantes fueron cultivados bajo la luz blanca. Palabras clave: bencil amino-purina, longitud de onda luminica, organogenesis directa, *Stevia*

Organogenic processes in *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana Bert (Asteraceae) is a perennial herb, native from Paraguay also well-known like "grass sweet", "leaf of honey". It produces in leaves several high-potency sweeteners and low in calories with 30 to 320 times sweeter than sugar. No adverse effects for humans has been reported this plant have a great economic value in the global market for sweeteners and sweeteners natural. It has generated great interest in developing programs for his improvement and study. The aim of this study were to establish a protocol for plant regeneration by direct organogenesis from leaf segments and evaluate the effect of light wavelenght supplied by LEDs for induction of organogenic processes. Explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) with different concentrations of benzyl amino purine (BAP) alone and in combination with indole acetic acid (IAA). The addition of BAP 2.5 mg l⁻¹ to the medium induce direct organogenesis, the regeneration percentage was close to 60% with 5.26 shoots/explant. Light wavelenght influenced the organogenic response. The wavelenght for

yellow light wave provided by LEDs, increased the frequency of shoot formation and reduced the time for response, blue light caused a decrease in organogenic events in comparison with results obtained when explants were grown under white light.

Keywords: bencil amino-purine, direct organogenesis, light wavelength, *Stevia*

TALLER INTERACCION PLANTA-MICROORGANISMO

T4.1 Ocurrance of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium* sp. in fruit trees in Cuba

Miguel Ramos-Leal^{1*}, Reinaldo Israel Cabrera¹, Karina L Crespo-Zulueta¹, Jesús Ferrer¹, Alexander Banguela¹, Sara Herrera²

¹Departamento Fitopatología, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT). Ave. 7ma. No. 3005 e/ 30 y 32, Playa, La Habana, Cuba. *fitopatologia18@iift.cu

²Instituto de Ecología y Sistemática (IES). La Habana, Cuba.

Fruit trees are frequently attacked by different phytopathogenic fungi, causing in some cases serious damages. Presence of fungi in different *Citrus* species and other fruit trees have raised considerable dissemination due to their cosmopolitan distribution. The aim of the present investigation was focused on isolation and identification of fungi from Citrus and different fruits trees. Fungi were isolated by disinfection of symptoms present in wounded branches and transferred to malt extract agar (MEA). After incubating overnight at 25°C, germinating conidia were transferred to fresh MEA plates and prepared for all isolates. Genomic DNA was extracted from 100 mg of the mycelia grown in 2 % MEA, according to the protocol described by Wizard Genomic DNA purification kit (Promega). Amplification and sequencing of the ribosomal DNA intergenic spacers (ITS1-5.8S-ITS4) region was performed as described by White *et al.* (1990), using the following primers: ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') and ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Resulting amplicon in the expected size range was sequenced using the same primers according to Macrogen, Korea. Comparison of the obtained

sequence and the existent in NCBI GenBank databases was performed using the BLAST program. Phylogenetic analysis was performed using the Neighbour joining with MEGA versión 6.0 program. Topology of the resulting tree was evaluated by the bootstrap analysis with 1000 repetitions. Based on conidial and cultural characteristics, growth on MEA and ITS sequence data, ten genera were identified, being predominant the presence of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium* sp. in the different fruit trees studied. These two fungi infect divergent hosts in a wide range of environmental conditions, suggesting that they are highly variable. In addition, sixteen fungicides were screened *in vitro* for mycelial inhibition of these two pathogens. Benomyl, fludioxonil and tebuconazol + prochloraz for *L. theobromae*, prochloraz and tebuconazol + prochloraz for *Fusarium* sp. were the most effective fungicides tested.

Keywords: citrus, fungicides, pathogens

T4.2 Plant growth promotion activity and antagonism against phytopathogenic fungi of *Bacillus* strains from coffee rhizosphere

Marcia M Rojas Badía^{*1}, Miguel A Bello González¹, Katia Rosales Perdomo¹, Yoania Ríos Rocafull², Janet Rodríguez Sánchez², Leandro Licea Vargas², Mayra Heydrich Pérez¹

¹Dpto. de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Cuba. Calle 25 # 455 e/ J e I Vedado, La Habana, Cuba. *marcia@fbio.uh.cu

²Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Santiago de Las Vegas, La Habana, Cuba.

The use of plant growth promoting bacteria (PGPB) can substitute partially the use of chemical fertilizer and pesticides. The aim of the present work is the characterization of several strains belonged to *Bacillus* genus isolated from coffee rhizosphere from Granma and Guantánamo. The physiological characterization according auxins releasing, phosphate solubilization and nitrogen fixation were done. On the other hand, the antagonistic activity against two phytopathogenic fungi was performed. Two strains were selected to study the dynamics of phosphorous and potassium solubilization, biofilm

formations and swarming and swimming motility. Several isolates produce indolacetic acid, solubilize inorganic phosphate and fix nitrogen. All of them showed antagonistic activity against *Corynespora cassiicola* and *Fusarium* sp. The inhibition of mycelial growth in dual culture experiments are over 55 % for both fungi. Also, the *Bacillus* strains produce morphological effects in the mycelia, such as hyphae swollen and formation of bulbs or vesicles, and colony structure deformation, clear zones, change in the color. The strains RC15 (*B. amyloliquefaciens*) solubilized phosphate and potassium from 24 hour of growth, while RC9 (*B. megaterium*) has a similar behavior for phosphate solubilization but the potassium begin at 120 hour. Both strains showed biofilm formation capacity as well as swarming and swimming motility, but the strain RC15 more active movement, maybe enhanced by it biosurfactant production, which reduce the surface tension. All characteristics can help to promote the plant growth as showed the inoculation effects in greenhouse *in vivo* assays in germinations and root dry weight using maize as model system. All results demonstrated the potentialities for plant growth promotion and biological control that is why it is the opportunity for agrobiotechnological applications.

Keywords: antagonism, *Bacillus*, rhizosphere, *Cooffea Arabica*

Actividad promotora del crecimiento y antagonismo frente a patógenos fúngicos de cepas de *Bacillus* aisladas de la rizosfera del café

El uso de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) podría sustituir parcialmente el uso de fertilizantes y pesticidas químicos. El objetivo de este trabajo es la caracterización de varias cepas de este género aisladas de la rizosfera del café cultivado en Granma y Guantánamo. La caracterización fisiológica se llevó a cabo teniendo en cuenta la producción de auxinas, solubilización de fosfatos y fijación de nitrógeno. Por otra parte, se probó la actividad antagonista frente a dos hongos fitopatógenos. Se seleccionaron dos cepas para estudiar la dinámica de solubilización de fósforo y potasio, formación de biopelículas, capacidad de movimiento superficial mediado por flagelo (swarming) y movimiento natatorio (swimming). Varias cepas producen auxinas, solubilizan fosfatos y fijan nitrógeno. Todas muestran actividad antagonista en experimentos de cultivo

dual frente a *Corynespora cassiicola* y *Fusarium* sp., con una inhibición del crecimiento del micelio por encima de 55 %. Además, las cepas de *Bacillus* producen cambios morfológicos en el micelio del hongo como hinchamiento de las hifas y formación de vesículas o bulbos y las colonias se deforman estructuralmente aparecen zonas claras y cambia su coloración. La cepa RC15 (*B. amyloliquefaciens*) solubiliza fosfato y potasio desde las 24 horas del crecimiento, mientras que RC9 (*B. megaterium*) tiene un comportamiento similar para el fosfato pero inicia la solubilización de potasio a las 120 horas. Ambas cepas muestran formación de biopelículas, así como movimiento superficial y natatorio, pero la cepa RC15 tiene un movimiento más activo, quizás potenciado por la capacidad de producir biosurfactantes, los que reducen la tensión superficial. Todas estas características pueden contribuir a promover el crecimiento vegetal, como se muestra en los ensayos de inoculación *in vivo* en invernadero en cuanto a la estimulación de la germinación y el peso seco de raíces empleando el maíz como planta modelo. Los resultados demuestran las potencialidades para la promoción del crecimiento de las plantas y el control biológico, lo que resulta una oportunidad para futuras aplicaciones agrobiotecnológicas.

Palabras clave: antagonismo, *Bacillus*, rizosfera, *Cooffea arabica*

T4.3 Interacción *Gluconacetobacter diazotrophicus*-hortalizas como alternativa para estimular el crecimiento de zanahoria (*Daucus carota* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.)

Yoania Ríos Rocafull^{1*}, Ulises Socas Estrada¹, Daniel la O Machado¹, Janet Rodríguez Sánchez¹, Marcia Rojas Badía², Raiza Garbey Coroneaux¹, Grisel Tejeda González¹, Marisel Ortega García¹, Bernardo Dibut Alvarez¹, Zulay Acosta Hernández¹, Surama Villarejo Vega¹

¹ Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT, Calle 188, esquina 397, Santiago de las Vegas, Boyeros, La Habana, Cuba. CP 17 200. *dpagrobiotec@inifat.co.cu

²Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

Gluconacetobacter diazotrophicus es una bacteria endófito con características favorables para la estimulación del crecimiento vegetal. Aunque se ha demostrado el efecto positivo de su interacción con cultivos como la caña de azúcar, el arroz y viandas tropicales, los estudios con hortalizas son limitados y en su gran mayoría se han realizado bajo condiciones controladas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación sobre zanahoria y remolacha de un formulado obtenido a partir de la especie bacteriana. La cepa utilizada, proveniente del cultivo del mango, se seleccionó en interacción con ambas hortalizas. Características metabólicas del microorganismo como la solubilización de fósforo, la producción de ácidos, el crecimiento en presencia de sustratos celulósicos, la liberación de endoglucanasas, la formación de biopelículas, la actividad frente a tres especies de *Fusarium* y su efecto estimulador del crecimiento sobre las hortalizas dependen del medio de cultivo utilizado para su crecimiento, aun cuando la concentración de la bacteria permanece estable. La aplicación del microorganismo crecido en un medio de cultivo a base de arroz contribuyó a disminuir la incidencia de *Cercospora betticola*, permitió un mejor desarrollo de las raíces de ambos cultivos hortícolas, órgano donde se evidenció un aumento en la concentración de carbohidratos. Sin embargo, no incrementó el contenido de nitrógeno en la planta, por lo que el efecto se asoció con la liberación de fitohormonas. Se considera que *G. diazotrophicus* pudo colonizar ambas especies vegetales por el aumento en número de bacterias endófitas en plantas inoculadas, en especial de *Gluconacetobacter* spp. Bajo condiciones de organoponía también se demostró que la aplicación del microorganismo puede ser una herramienta a incorporar en el manejo de estas especies hortícolas.

Palabras clave: bioproductos, endófitos, estimulación del crecimiento vegetal

Interaction *Gluconacetobacter diazotrophicus*-vegetable as alternative to stimulated the growth of carrot (*Daucus carota* L.) and beet (*Beta vulgaris* L.)

Gluconacetobacter diazotrophicus is an endophyte bacterium with good characteristic for plant growth promotion. Although the positive effect of its interaction has been demonstrated in interaction with plants like the sugar cane, the rice and tropical viands, the studies with vegetables are limited and in its great majority they have been

carried out under controlled conditions. The aim of the present work was to evaluate the effect of the inoculation over carrot and beet of a formulated obtained by this bacteria specie. The strain, isolated from mango, was selected in interaction with both vegetables. Metabolic characteristics of the microorganism like the solubilization, the production of acids, the growth in presence of cellulosic substrate, the endoglucanase liberation, the biofilm formation, the activity in front of three species of *Fusarium* and its plant growth promotion effect over vegetables depends of the culture medium used for its growth, even when the concentration of the bacteria remains stable. The application of the microorganism grown in a medium with rice contributed to diminish the incidence of *Cercospora betticola*, it allowed a better development of the roots of both vegetables, organ where it was evidenced and also increased in the concentration of carbohydrates. However, it didn't increase the nitrogen content in the plant, for what the effect was associated with the hormones liberation. It is considered that *G. diazotrophicus* could colonize both vegetable species for the increase in number of endophyte bacteria in inoculated plants, especially of *Gluconacetobacter* spp. Under organoponic conditions it was also demonstrated that the application of the microorganism can be a tool to incorporate in the management of these vegetables species.

Keywords: bioproducts, endophytes, plant growth promotion

T4.4 Interacción *Mesorhizobium*-garbanzo (*Cicer arietinum* L.) como herramienta ante el efecto provocado por el cambio climático

Marisel Ortega García^{1*}, Tomas Shagarodsky Scull¹, Luis A Gómez Jorin², Yoania Rios Rocafull¹, Bernardo Dibut Álvarez¹, Grisel Tejeda González¹, Raiza Garbey Coroneaux¹, Ulises Socas Estrada¹

¹Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT, Calle 188, esquina 397, Santiago de las Vegas, Boyeros, La Habana, Cuba. CP. 17 200.

*subdircientifica@inifat.co.cu

²Instituto de Suelos. La Habana, Cuba.

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) ocupa un lugar importante en el mundo como grano de consumo

para la población y en Cuba tiene una demanda potencial. Este trabajo tuvo como objetivo potenciar la respuesta productiva del cultivo mediante una estrategia de manejo con la utilización de *Mesorhizobium* sp. Se logró seleccionar la cepa más efectiva de *Mesorhizobium* sp, para potenciar la respuesta productiva de este cultivo. El suelo utilizado se caracterizó, por un contenido de materia orgánica de 3.1 %, lo que lo ubica en una categoría de fertilidad media según la FAO. Los niveles de fósforo estuvieron en 29.9 % por lo que se considera categoría de media a baja, según la escala de evaluación del Servicio Agroquímico Nacional. La temperatura y humedad relativa aumentaron con respecto a los años anteriores, mientras que las precipitaciones decrecieron en esta etapa, lo que incide desfavorablemente en el desarrollo del cultivo. En los ensayos experimentales en condiciones de campo se evaluaron los parámetros de crecimiento y desarrollo del cultivo (altura y peso total de la planta, diámetro del tallo, peso de la raíz, número y peso de las vainas y granos). Además, se evaluó la presencia de vainas vanas y afectadas por la incidencia de ataques por *Heliothis*. Se observó que los tratamientos combinados de la cepa RM-3 de *Mesorhizobium* con el uso de alto P en el suelo, favorecieron el desarrollo y la productividad del cultivo.

Palabras clave: caracterizar, desarrollo, productividad

Interaction *Mesorhizobium* - chickpea (*Cicer arietinum* L.) as tool to the effect caused for the climatic change

The chickpea (*Cicer arietinum* L.) it occupies an important place in the world like consumption grain for the population and in Cuba it has a potential demand. This work had as objective to develop the productive answer of the cultivation by a handling strategy with the use of *Mesorhizobium* sp. It was selected the most effective strain in *Mesorhizobium* sp, for to develop the productive answer of this cultivation. The used soil was characterized, for a content of organic matter of 3.1 %, what locates it in a category of half fertility according to the FAO. The match levels were in 29.9 % for what is considered category from low to half, according to the scale of evaluation of the National Service Agrochemistry. The temperature and relative humidity increased with regard to the previous years, while the precipitations fell in this stage, what impacts unfavorably in the

development of the cultivation. In the experimental practices under field conditions was evaluated the parameters of growth and development of the cultivation (height and total weight of the plant, diameter of the shaft, weight of the root, number and weight of the sheaths and grains). In addition, the presence of vain sheaths was evaluated and affected by the incidence of attacks by *Heliothis*. It was observed that the combined treatments of the strain RM-3 of *Mesorhizobium* with the use of high P in the soil, favored the development and the productivity of the cultivation.

Keywords: characterized, development, productive

T4.5 Expression of a *Nicotiana tabacum* pathogen-induced gene is involved in the susceptibility to black shank

Roxana Portieles

Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Havana, CP 10 600, Cuba.

Many host genes induced during compatible plant-pathogen interactions constitute virulence targets that act to suppress host defenses. In order to identify *Nicotiana tabacum* genes for pathogen-induced proteins involved in susceptibility to the oomycete *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, SuperSAGE technology combined with next-generation sequencing were used to identify transcripts that are differentially up-regulated during a compatible interaction. We identified a pathogen-induced gene (*NtPIP*) that was rapidly induced during the compatible interaction. Silencing of *NtPIP* reduced the susceptibility of *N. tabacum* to *P. parasitica* var. *nicotianae*. Additionally, transient expression of *NtPIP* gene in the resistant species *N. megalosiphon* compromised the resistance to *P. parasitica* var. *nicotianae*. This pathogen-induced protein is therefore a positive regulator of the susceptibility response against an oomycete pathogen in tobacco.

Keywords: compatible, interaction, pathogen – induced, genes, silencing

T4.6 Detection of resistance related gene in sugarcane cultivars inoculated with sugarcane mosaic virus

María de la Luz LaO Hechavarría, Yaquelin Puchades Izaguirre, María de los Ángeles Zardón Navarro, Juana Pérez, Mario Casas, Joaquín Montalván, José Mesa

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar.
Carretera CUJAE Km 2½, Boyeros, La Habana.
*lao@inica.azcuba.cu

Response induced by plant pathogens infections is activated by recognition of pattern associated molecular pathogen or carried proteins for pathogens to host cells. This is a general response and they are involved several genes which can be found in public databases. They supported the selection of functional domains related to resistance to biotic stress in sugarcane. From 243 analyzed sequences were designed and synthesized six pairs of primers and screening in eleven sugarcane cultivar with differential response to sugarcane mosaic virus was performed. Results showed basal levels of polyubiquitin, binding-Zn protein and protein regulated by auxin genes in all tested cultivars. These genes seem to be regulated by viral silencing. However a growth promoter auxin-independent avoid such mechanism. In the other hand, expressed fragments similar to endopeptidase and phosphoglucomutase are induced by viral infection. For first time induction and repression of genes related to biotic stress are related to SCMV infection. This result has potential for application in germplasm characterization and usage as resistance indicators in sugarcane-SCMV interaction considering that mosaic resistance is a key criterion in the breeding programs of several countries.

Keywords: auxin genes, growth promoter, viral silencing

T4.7 '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', Causal agent of Citrus Huanglongbing, is reduced by treatment with Brassinosteroids

Eduardo Canales

Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Havana, Cuba.

Huanglongbing (HLB) constitutes the most destructive disease of citrus worldwide, yet no established efficient management measures exist for it. Brassinosteroids, a family of plant steroidal

compounds, are essential for plant growth, development and stress tolerance. As a possible control strategy for HLB, epibrassinolide was applied to as a foliar spray to citrus plants infected with the causal agent of HLB, '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. The bacterial titers were reduced after treatment with epibrassinolide under both greenhouse and field condition but was stronger in the greenhouse. Known defense genes were induced in leaves by epibrassinolide. With the SuperSAGE technology combined with next generation sequencing, induction of genes known to be associated with defense response to bacteria and hormone transduction pathways were identified. The results demonstrate that epibrassinolide may provide a useful tool for the management of HLB.

Keywords: defense genes, hormone transduction, pathways, control

T4.8 Detección de posibles genes de patogenicidad en *Nocardia* sp. cepa T42, agente causal del "falso orobanche" que afecta al tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en Cuba

Yunior Miguel Morán Gómez^{1*}, Osmani Chacón Chacón¹, Reyna Isabel Rojas Martínez², Rosario Domínguez Larrinaga¹

¹Instituto de Investigaciones del Tabaco. Carretera a Tumbadero, km 8 ½, San Antonio de los Baños, Artemisa. Cuba.
*biologia8@iitabaco.co.cu;
yunior.moran@gmail.com

²Colegio de Postgraduados. Campus "Montecillo". Texcoco. Estado de México. México.

El "falso Orobanché" afecta a la producción tabacalera de Cuba. El agente causal de esta enfermedad es un actinomiceto perteneciente al género *Nocardia*. Las plantas afectadas muestran un marcado enanismo y raquitismo debido a la abundante proliferación de brotes y tumores en las raíces inducidos por este agente fitopatógeno. Síntomas similares los producen en tabaco los actinomicetos *Rhodococcus fascians* y *Streptomyces turgidiscabies*. La responsabilidad de las citoquininas en la inducción de síntomas por estos agentes ha sido demostrada experimentalmente, en ambos microorganismos, se han encontrado genes de una vía biosintética activa de citoquininas homóloga. Dada la similitud de los síntomas que inducen en tabaco estos tres

agentes fitopatógenos, la cercanía filogenética entre ellos, así como la demostrada capacidad de los actinomicetos de intercambiar genes entre sí, es posible que *Nocardia* sp. posea genes de patogenidad similares a los descritos para *R. fascians*. El objetivo de este trabajo fue detectar posibles genes de patogenidad implicados en la interacción *Nocardia* sp. / *N. tabacum*. Para la detección del gen codificante de la isopentenil transferasa (*ipt*) se emplearon las parejas de cebadores JRERIGTH-JRELEFT; y fas4F-fas4R. Para la detección del gen de la proteína reguladora del operón *fas* se emplearon los oligonucleótidos fasR_F-fasR_R. Para el gen de la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa se empleó la pareja fas5F-fas5R. Todos estos cebadores se han empleado con éxito con *R. fascians*. En este estudio solo se pudo obtener éxito en las amplificaciones al trabajar con condiciones de PCR poco astringentes. Algunas de las secuencias de los amplicones obtenidos con los cebadores fas4F-fas4R y fas5F-fas5R en *Nocardia* sp. mostraron identidad con secuencias presentes en el genoma de *Nicotiana sylvestris* y *Nicotiana tomentosiformis*, quienes son los progenitores de *N. tabacum*. Pudiera ser que *Nocardia* sp. emplee estos análogos de estos genes de las plantas para inducir los síntomas del "falso Orobanché".

Palabras clave: citoquinina, Isopentenil-transferasa, *R. fascians*, secuenciación, *S. turgidiscabei*

Detection of potential pathogenicity genes in *Nocardia* sp. cepa T42, causal agent of "false broomrape", affecting tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in Cuba

False Broomrape affects tobacco production in Cuba. The causal agent of this disease is an actinomycete belonging to the genus *Nocardia*. Diseased plants show marked stunting, rickets and dwarfing due to the abundant proliferation of aborted shoots and root's tumors induced by this plant pathogen. Similar symptoms are produced in tobacco by other two actinomycetes; *Rhodococcus fascians* and *Streptomyces turgidiscabies*. The responsibility of cytokinins in the induction of symptoms in tobacco plants by these agents has been experimentally demonstrated and, in both microorganisms, has been found homologous genes of an active biosynthetic pathway of cytokinins. Because of the similarities in the symptoms induced by these three plant pathogens in tobacco plants,

phylogenetic closeness between them, as well as the demonstrated ability of actinomycetes to exchange genes among themselves, may be that *Nocardia* sp. has similar pathogenic genes to those described for *R. fascians*. The aim of this study was to detect potentially pathogenic genes involved in the interaction *Nocardia* sp. strain T42 / *N. tabacum*. For detection of the gene encoding isopentenyl transferase (*ipt*) two primer pairs were used JRERIGTH-JRELEFT; and fas4F-fas4R. For detection of gene operon regulatory protein the fas-fasR_F and fasR_R oligonucleotides were used. For oxidase / dehydrogenase cytokinin gene the couple fas5F-fas5R was used. All these primers have been used successfully with *R. fascians*. In this study it was able to achieve success working with PCR conditions very little astringent. Some sequences of the amplicons obtained with fas4F-fas4R and fas5F-fas5R primers in *Nocardia* sp. showed identity with sequences present in *Nicotiana sylvestris* and *Nicotiana tomentosiformis* genome, who are the progenitors of *N. tabacum*. It may be that *Nocardia* sp. used analogs of these plant genes to induce the symptoms of "false Orobanche" in his host plants.

Keywords: cytokinins, isopentenyl transferase, *Rhodococcus fascians*, secuenciación, *Streptomyces turgidiscabei*

T4.9 Obtención de plantas de *Opuntia ficus indica* "tuna" tolerantes a la cercosporiosis

Paula García Godos Alcázar^{1*}, Ronald Prado Sumari², Fidel Mujica Lengua³

¹ Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Portal Independencia N° 57 Ayacucho. Perú.
*paulagga30@hotmail.com

La cercosporiosis de "tuna" causada por hongo *Cercospora* sp. se ha convertido en una enfermedad de importancia económica en nuestro país, por lo que la investigación se planteó el objetivo de obtener plantas de *Opuntia ficus indica* "tuna" tolerantes a la cercosporiosis. Se aisló e identificó a la *Cercospora* sp. a partir de plantas de tuna con cercosporiosis, realizándose la prueba de patogenidad y evaluando la tolerancia de las plantas a la cercosporiosis. Se recolectaron 11 muestras de cladodios de tunas, realizándose un muestreo al azar y obteniéndose

nueve muestras del banco de germoplasma de INIA Ayacucho y dos muestras del distrito de Luricocha de la Provincia de Huanta. Para la aplicación de las pruebas de patogenicidad se realizaron dos tratamientos el primero de infección por bloques (agar-esporas) y el segundo consistió en inocular 10^6 esporas por ml de caldo papa dextrosa y se evaluó a los 35 y 70 días de inoculación. Como resultado de la investigación se aisló cepas de *Cercospora* sp. obtenidas de cladodios enfermos con cercosporiosis y se identificó resultando de la observación macroscópica colonias de color verde a café y de la observación microscópica conidios de color verde olivo, largos con 0-7 septos como también conidios libres y dispersos y como producto de las pruebas de patogenicidad se encontró a las plantas N° 9 y 10 tolerantes a la enfermedad ya que no presentaron áreas infectadas o síntomas de enfermedad. Evaluándose estadísticamente se obtuvo que las plantas de código 1, 9 y 10 no difieren significativamente, por lo que se podría considerar como las mejores opciones, resultados que confirman los hallazgos experimentales.

Palabras clave: cercosporiosis, patogenicidad, tolerantes

Obtaining plant of *Opuntia ficus indica* "tuna" tolerant to the cercosporiosis

The cercosporiosis of the tuna caused by mushroom *Cercospora* sp. has turned into a disease of economic importance into our country, for what in the investigation raise the aim to obtain tolerant plants of *Opuntia ficus indica* "tuna" to the cercosporiosis. The *Cercospora* sp. was isolated and identified from plants of tuna with cercosporiosis, tests being realized of pathogenicity and evaluating the tolerance of the plants to the cercosporiosis. 11 samples were gathered of cladodios of tunas, a sampling being realized at random and 9 samples of the bank being obtained of germoplasma of INIA Ayacucho and 2 samples of Luricocha's district of Huanta's Province. For the application of the tests of pathogenicity the first one of infection realized two treatments for blocks (agar - spores) and the second one consisted of inoculating 10^6 spores for ml with broth it eats dextrose and it was evaluated to 35 and 70 days of inoculation. Since result of the investigation were obtained isolated of *Cercospora* sp. from cladodios with cercosporiosis. Macroscopic observation identified colonies of green color to coffee. From the microscopic observation long conidios of olive-

green color with 0 - 7 septos as also conidios free and dispersed were observed. Results of pathogenicity test found the plants N° 9 and 10 were tolerant to the disease since they did not present infected areas or symptoms of disease. Being evaluated statistically there was obtained that the plants of code 1, 9 and 10 do not differ significantly, for what it might consider to be the best options, results that confirm the experimental findings.

Keywords: cercosporiosis, pathogenicity, tolerants

T4.10 Bioproducto a base de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* Rifai para el manejo de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en bananeras orgánicas de Ecuador

Rosa Castro^{1*}, Marcia Pesántez¹, Lidia Castro¹, Carmen Díaz¹, Yelenys Alvarado-Capó²

¹ Facultad de Recursos Naturales. Departamento de Fitopatología. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH). Panamericana Sur km 1 ½. CP 06-01-4703, Riobamba. *rosa.castro@epoch.edu.ec

² Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

El control biológico de Sigatoka negra, mediante la utilización de microorganismos bajo las condiciones ambientales de Ecuador es un problema no resuelto exitosamente. Este trabajo se planteó como objetivo desarrollar un bioproducto a base de una cepa nativa de *Trichoderma* spp. que pudiera emplearse en el manejo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en bananeras orgánicas. Fue posible seleccionar cepas nativas de *Trichoderma* spp. por su velocidad de crecimiento *in vitro* y su antagonismo frente a *M. fijiensis*. Se identificaron tres especies: *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *T. pseudokoningii*. Se comprobó su actividad antagónica por la presencia de competencia por espacio, nutriente y micoparasitismo. Se obtuvo una formulación líquida a base de esporas de *T. harzianum* CCh-p1, que en casa de cultivo tuvo una eficiencia del 97.6 % mientras que en campo redujo el índice de infección y tuvo una eficacia entre 18.0 y 24.6 %. El análisis económico demostró la factibilidad de aplicar 5.0 l ha⁻¹, pues

la tasa de retorno marginal y los beneficios netos fueron superiores. Además, se comprobó su compatibilidad con productos empleados para la protección de plantas en esquemas de manejo integrado de la enfermedad. Los resultados de este estudio, unido al desarrollo de un sistema de control de la calidad al proceso y al producto final, posibilitaron el registro del bioproducto, con la marca TRIKOFUN y registro MAG: 020611018, en el Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador. Ello permitió disponer de un producto a base de esporas de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* Rifai, con efecto en campo sobre Sigatoka negra que se aplica en el cultivo orgánico de bananos.

Palabras clave: *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *T. pseudokoningii*

Bioproduct based on a native strain of *Trichoderma harzianum* Rifai to the management of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) in organic banana in Ecuador

Biological control of Black Sigatoka, using microorganisms under the environmental conditions of Ecuador is a problem not solved successfully. This work is aimed at developing a bioproduct based on a native strain of *Trichoderma* spp. it could be used in the management of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) in organic banana. It was possible to select native strains of *Trichoderma* spp. according to *in vitro* growth rate and antagonism against *M. fijiensis*. It were identified three species: *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. pseudokoningii*. Its antagonistic activity was checked by the presence of competition for space, nutrients and micoparasitism. A liquid formulation based on spores of *T. harzianum* CCh-p1 was obtained, which in greenhouse had an efficiency of 97.6 %, while in field reduced the rate of infection and had an efficiency between 18.0 and 24.6 %. The economic analysis demonstrated the feasibility of applying 5.0 l ha⁻¹, as the marginal rate of return and net profits were higher. Also found its compatibility with products used for plant protection in integrated management schemes disease. The results of this study, together with the development of a quality control system to the process and to the final product, t enabled registration with the mark TRIKOFUN and registration MAG: 020611018, at the Ministry of Agriculture and Livestock of Ecuador. This made it possible to have a bioproduct based on spores of

a native strain of *Trichoderma harzianum* Rifai, with effect on Black Sigatoka in field and applied in the organic culture of bananas in Ecuador.

Keywords: *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *T. pseudokoningii*

T4.11 Mapping Quantitative trait loci of stripe rust resistance inbred wheat population

Cynthia Ortiz Robles^{1*}, Beatriz Xoconostle Cázares¹, Roberto Ruiz Medrano¹, Prashant Vikram², Sukhwinder Singh²

¹Center for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México.
*bxoconos@cinvestav.mx

²International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMY). El Batán, Texcoco, Edo. De México.

Yellow rust caused by *Puccinia striiformis* is a wheat disease of worldwide importance. Yellow Rust is one of the most devastating disease in wheat causing significant lost to the grain yield globally. In order to reduce the chemical spray for controlling this disease, genetic modification of varieties is a prefer alternative. Genomics assisted approaches offer promise of fast track breeding in wheat for durable rust resistance. A synthetic by elite population was evaluated for yellow rust disease in two different environments in Mexico, CIMMYT experimental fields Batán and Toluca, México. This population was Genotyping By Sequencing (GBS). The aim of this research is to detect and locate "loci" affecting quantitative traits (QTLs) associated with yellow rust in a biparental population F5 from the cross line Botno/ Ae. Squarrosa (666) // Kachu of CIMMYT. Rust resistance QTL are located within a segment of *Triticum ventricosum* chromosome 2NS translocated to the short arm of bread wheat chromosome 2AS, further analysis is ongoing to confirm this finding. The positive allele for the effect of this QTL was contributed by a CIMMYT's elite bread wheat line 'Kachu'. The phenotypic variance explained by this QTL was up to 30 %. In addition of this another QTL was also identified from synthetic parent: Botno/ Ae.squarrosa (666). Identified genomic regions can be successfully introgress in to the popular but susceptible wheat varieties for enhancing yellow rust resistance and

therefore grain yield, simultaneously reducing chemical cost for disease control.

Keywords: Genotyping By Sequencing, Plant Breeding, *Puccinia striiformis*, Quantitative Trait Locus, *Triticum aestivum*

Mapeo de locus de carácter cuantitativo de resistencia a roya amarilla de una población endogámica de trigo

La roya amarilla causada por *Puccinia striiformis* es una enfermedad del trigo de importancia en todo el mundo. La roya amarilla es una de las enfermedades más devastadoras en el trigo que causa una pérdida significativa al rendimiento de grano a nivel mundial. Con el fin de reducir el aerosol químico para el control de esta enfermedad, la modificación genética de las variedades se prefiere como alternativa. Enfoques genómicos asistidos ofrecen la promesa de una vía rápida de mejoramiento en trigo para la resistencia duradera a la roya. Se evaluó una población de una línea sintética y élite para la enfermedad de la roya amarilla en dos ambientes diferentes en México en los campos experimentales de CIMMYT, Batán y Toluca. Esta población fue genotipada por secuenciación (GBS). El objetivo de esta investigación es detectar y localizar 'loci' que afecta a los rasgos cuantitativos (QTLs) asociados a la roya amarilla en una población F5 biparental de la línea Botno / Ae. Squarrosa (666) / 'Kachu' del CIMMYT. Un QTL consistente de resistencia a roya se encuentra dentro de un segmento de *Triticum ventricosum* cromosoma 2NS translocado en el brazo corto del cromosoma 2AS de trigo, un análisis más detallado está en curso para confirmar este hallazgo. El alelo positivo para el efecto de este QTL fue aportado por una línea de trigo élite de CIMMYT 'Kachu'. La varianza fenotípica explicada por este QTL fue hasta el 30 %. Además de este, otro QTL también se identificó proveniente del padre sintético, Botno / Ae.squarrosa (666). Regiones genómicas fueron identificadas y pueden ser utilizadas para la introgresión exitosa en variedades de trigo populares, pero susceptibles de mejorar la resistencia a la roya amarilla y por tanto para el rendimiento de grano, al mismo tiempo reducir el costo de químicos para el control de la enfermedad.

Palabras clave: genotipado por secuenciación, locus de un carácter cuantitativo, mejoramiento de plantas, *Puccinia striiformis*, *Triticum aestivum*

T4.12 Evaluación del efecto de inhibidores de la síntesis y la acción del etileno en el desarrollo de la pudrición de cogollo en plántulas de palma aceitera sometidas a *Phytophthora palmivora*

John Alejandro Álvarez Restrepo*, Rodrigo Hoyos Sánchez

Universidad Nacional de Colombia, Calle 59 A N 63-20, Medellín, Colombia.
*jaalvar4@unal.edu.co, rhoyos@unal.edu.co

Se evaluaron tres tratamientos para determinar la acción de algunos inhibidores de la síntesis y la acción del etileno sobre el desarrollo de la pudrición de cogollo en plántulas de palma de aceite. Se utilizó ión cobalto (CoCl_2) en niveles 5 μM , 10 μM y 15 μM , Tiosulfato de plata en niveles 5 mg l^{-1} , 10 mg l^{-1} y 20 mg l^{-1} y agua destilada estéril y se evaluó su acción frente al desarrollo de la pudrición de cogollo. Después de 15 días de aplicados los tratamientos, se inoculó sobre los tejidos del meristema apical del tallo y sobre las hojas suspensiones de esporangios de *Phytophthora palmivora* en una concentración de 40 000 esporangios/ml en una gota de 10 μl . Transcurridos 15 días después de la inoculación, se evaluó la presencia del patógeno sobre cada unidad experimental y se registró el porcentaje de tejido afectado de acuerdo a la escala propuesta por Cenipalma para evaluar el grado de severidad de la enfermedad. Además, se realizó una amplificación genética RT-PCR para genes receptores de etileno ETR1 y ERS1 sobre las plántulas de palma de aceite y correlacionarlo con el efecto de los inhibidores. Los resultados evidenciaron pequeñas lesiones (Grado 1 y 2 de acuerdo a la escala utilizada), sobre las hojas más jóvenes de las plántulas en algunos tratamientos (CoCl_2 en dosis de 5 μM y 10 μM y Tiosulfato de plata – STSen dosis de 5 mg l^{-1} , además de las unidades experimentales inundadas con agua destilada estéril). De acuerdo con el análisis estadístico se presentaron diferencias significativas entre algunos de los tratamientos ($p\text{-value} < 0.05$) evidenciando que el efecto de los inhibidores es positivo para prevenir el desarrollo de la enfermedad. La identificación molecular del receptor ETR1 mediante RT-PCR en algunas plántulas sugiere la participación que tiene el etileno en el desarrollo de la pudrición de cogollo en plantas de palma aceitera.

Palabras clave: Inhibidores de etileno, palma de aceite, pudrición de cogollo

T4.13 Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai (CCIBP-Trich 4) frente a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Mayra Acosta-Suárez^{1*}, Tatiana Pichardo¹, Berkis Roque¹, Mileidy Cruz-Martín¹, Eilyn Mena¹, Michel Leiva-Mora¹, Rosa Castro^{1,2}, Yelenys Alvarado-Capó¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní. km 5.5. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *mayra@ibp.co.cu

²Facultad de Recursos Naturales. Departamento de Fitopatología. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Panamericana Sur km 1 ½. Riobamba. Ecuador. CP 06-01-4703.

Se evaluó el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (CCIBP-Trich 4) frente *Mycosphaerella fijiensis*, patógeno foliar de plátanos y bananos. Los ensayos se efectuaron mediante el método de cultivo dual. La competencia por espacio y nutrientes, la capacidad antagonista y las formas e intensidad del antagonismo se determinaron tomando en cuenta la invasión de la superficie de la colonia, colonización y esporulación del antagonista sobre el patógeno a los siete días de inoculación. Finalmente se evaluó el efecto de metabolitos volátiles de *T. harzianum*. Los resultados mostraron que existió antagonismo *in vitro* de *T. harzianum* sobre *M. fijiensis* por competencia tanto por espacio como por los nutrientes del medio de cultivo. *Trichoderma* creció sobre la colonia del patógeno con hiperparasitismo e intensidad elevada. Además, cubrió totalmente la superficie del medio de cultivo. *T. harzianum* no inhibió el crecimiento de *M. fijiensis* por metabolitos volátiles. Se observaron daños en la integridad de la pared celular de las hifas de *M. fijiensis* y salida del contenido celular al exterior. El empleo de hongos antagonistas, pudiera contribuir al diseño de estrategias para el manejo integrado de esta enfermedad.

Palabras clave: bananos y plátanos, biocontrol, mecanismos de acción

***In vitro* antagonism of *Trichoderma harzianum* Rifai (CCIBP-Trich 4) against *Mycosphaerella fijiensis* Morelet**

The *in vitro* antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Mycosphaerella fijiensis*, foliar pathogen of

banana and plantain, was evaluated. The assays were performed using the dual culture method. Competition for space and nutrients, the antagonistic capacity and forms and intensity of antagonism were determined considering the invasion of the surface of the colony, colonization and sporulation of *T. harzianum* on *M. fijiensis* after seven days of inoculation. Finally, the effect of volatile metabolites of *T. harzianum* was evaluated. The results showed *in vitro* antagonism of *T. harzianum* against *M. fijiensis* by competition for space and nutrients of the culture medium. *Trichoderma* grew over the pathogen colony with hyperparasitism and high intensity. Also, it completely covered the surface of the culture medium. *T. harzianum* not inhibited the growth of *M. fijiensis* by volatile metabolites. Damage was observed in the integrity of the cell wall of *M. fijiensis* hyphae and the cell content exit. The use of antagonistic fungi, could contribute to the design of strategies for integrated management of this disease.

Keywords: banana and plantain, biocontrol, mechanisms of action

T4.14 Respuesta a estrés oxidativo en *Musa acuminata* durante la infección con *Mycosphaerella fijiensis*

Milady F Mendoza-Rodríguez*, Bárbara Ocaña, Marilyn Hernández, Mayra Acosta-Suárez, Berkis Roque, María I Oloriz

El descubrimiento y entendimiento de los diferentes mecanismos disparados en *Musa* spp. posterior a la infección con *Mycosphaerella fijiensis*, constituye una prioridad para un mejor conocimiento de esta compleja relación. Sin embargo, los estudios en la interacción durante el proceso infeccioso aún están incompletos. Considerando los argumentos previos el principal objetivo de este trabajo fue caracterizar la respuesta a estrés oxidativo en plantas de 'Culcutta 4' y 'Grande naine' ante el desafío con este patógeno. Para este propósito, las tres primeras hojas abiertas de las plantas de banano fueron inoculadas con el aislado monoclónico de *M. fijiensis* CCIBP-Pf-83, el cual pertenece a la colección de cultivos microbianos del Laboratorio de Microbiología Aplicada del Instituto de Biotecnología de las Plantas (Cuba). En ambos cultivares se determinó la acumulación del anión superóxido (O₂⁻) y la actividad peroxidasa en hojas inoculadas a los 3, 6, 9, 12 y 15 días

posteriores a la inoculación (dpi) y en las no inoculadas al principio del experimento. Además, se determinó el efecto en plantas de 'Grande naine' inoculadas y/o asperjadas con diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (10, 20, 30 y 40 mM) a los 3 dpi, en el desarrollo de la enfermedad del rayado negro de la hoja. En los nueve ensayos previamente diseñados se midió el diámetro de cada una de las lesiones a los 49 dpi. Los resultados obtenidos de este estudio mostraron la temprana activación del proceso de estrés oxidativo durante la patogénesis. Además, se observó que la aplicación de H_2O_2 en plantas de 'Grande naine' influye en el desarrollo de esta enfermedad. Los nuevos elementos bioquímicos adquiridos con este estudio contribuirán a una mejor comprensión de la respuesta de *Musa acuminata* a la infección fúngica.

Palabras clave: Enfermedad del rayado negro de la hoja, *Musa acuminata*, estrés oxidativo

Response to oxidative stress in *Musa acuminata* during *Mycosphaerella fijiensis* infection

The discovering and understanding of different mechanisms triggered in *Musa* spp. after *Mycosphaerella fijiensis* infection, constitute a priority for a better knowledge of this complex relationship. However, studies in the interaction during the infection process are still incomplete. Considering previous arguments the main objective of this work was to characterize the oxidative stress response in 'Calcutta 4' and 'Grande naine' plants upon challenge with this pathogen. For this purpose, the first three open leaves of banana plants were inoculated with the monoascospore isolate of *M. fijiensis* CCIBP-Pf-83, which belong to the collection of microbial culture of Applied microbiology laboratory, Instituto de Biotecnología de las Plantas (Cuba). In both cultivars superoxide accumulation level ($O_2^{\cdot-}$) and peroxidase activity (POX) was determined in inoculated leaves at 3, 6, 9, 12 y 15 days post-inoculation (dpi) and in non-inoculated at the beginning of the experiment. Besides, the effect in 'Grande naine' plants inoculated and/or sprayed with different hydrogen peroxide (H_2O_2) concentrations (10, 20, 30 and 40 mM) at 3 dpi, on black leaf streak disease development was measured. In the nine assays previously designed, the diameter for every lesion was determine at 49 dpi. The results obtained from this study showed the early activation of oxidative

stress process throughout pathogenesis. Moreover, in 'Grande naine' plants the influence of H_2O_2 application in the development of this disease was observed. The new biochemical elements acquired with this study will contribute to a better comprehension of *Musa acuminata* response to fungal infection.

Keywords: Black leaf streak disease, *Musa acuminata*, oxidative stress

T4.15 Actividad antagónica *in vitro* de *Bacillus amyloliquefaciens* CCIBP-A5 frente a hongos patógenos de la papa

Eilyn Mena*, Mileidy Cruz-Martín, Mayra Acosta-Suárez, Berkis Roque, Tatiana Pichardo, Yelenys Alvarado-Capó

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *eilyn@ibp.co.cu

La producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) demanda el uso de productos químicos para el control de plagas y enfermedades. Sin embargo, estos afectan el medioambiente, la salud de las personas y encarecen el proceso. La selección de cepas microbianas con potencial para elaborar bioproductos que permitan un manejo sostenible del cultivo se ha convertido en una necesidad. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antagónica *in vitro* de *Bacillus amyloliquefaciens* CCIBP-A5 contra fitopatógenos del cultivo. Se realizaron ensayos de antagonismo *in vitro* por cultivo dual con cinco cepas de hongos fitopatógenos (*Alternaria solani* (Cooke) Wint, *A. alternata* (Fr) Keissl, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, *Geotrichum candidum* (Link.) y *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). La inhibición del crecimiento se calculó a los cinco días de incubación a 28°C y oscuridad. Los resultados indicaron que la cepa bacteriana inhibió el crecimiento de las cinco cepas fúngicas en más de 25 %. La interacción *in vitro* de *B. amyloliquefaciens* con los patógenos evidenció su actividad antagónica de amplio espectro. Además, se observaron alteraciones morfológicas en la estructura del micelio. Por otro lado, la cepa bacteriana solubiliza fosfato, fija nitrógeno y produce ácido indol acético; por lo que podría contribuir al crecimiento de las plantas. La cepa *Bacillus amyloliquefaciens* CCIBP-A5 posee

propiedades para ser considerada en la elaboración de un bioproducto para el cultivo de la papa.

Palabras clave: actividad antagónica, *Bacillus*, deformaciones morfológicas, fitopatógenos

***In vitro* antagonistic activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CCBP-A5 against pathogenic fungi of potato**

Seed potato (*Solanum tuberosum* L.) production demands the use of chemicals to control pests and diseases. However, these affect the environment, health of people and expensive process. The selection of microbial strains with potential to produce bioproducts that enable sustainable crop management has become a necessity. In this context, the aim of this study was to determine *in vitro* antagonistic activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CCIBP-A5 phytopathogenic crop. *In vitro* antagonism assays were performed by dual culture with five strains of phytopathogenic fungi (*Alternaria solani* (Cooke) Wint, *A. alternata* (Fr) Keissl, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, *Geotrichum candidum* (Link.) y *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). Growth inhibition was calculated after five days of incubation at 28°C and darkness. The results indicated that the bacterial strain inhibited growth of five fungal strains in more than 25%. The *in vitro* interaction of *B. amyloliquefaciens* with the pathogens showed its broad spectrum of antagonistic activity. Furthermore, morphological alterations in mycelium structure were observed. In other hand, the bacterial strain solubilized phosphates, fix nitrogen and produces indole acetic acid, so that it can contribute to plant growth. The strain *Bacillus amyloliquefaciens* CCIBP-A5 has properties to be considered in developing a bioproduct for growing potatoes.

Keywords: antagonistic activity, *Bacillus*, morphological deformities, plant pathogens

T4.16 Potencial de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la filosfera de *Musa* spp. como agentes de biocontrol de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Mileidy Cruz-Martín*, Eilyn Mena, Mayra Acosta, Berkis Roque, Tatiana Pichardo, Yelenys Alvarado-Capó

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. mileidy@ibp.co.cu

El control de la Sigatoka negra representa un gran reto y se requiere del desarrollo de programas de manejo integrado que incluyan alternativas biológicas que permitan disminuir el uso de fungicidas químicos. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el potencial de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la filosfera de *Musa* spp. como agentes de biocontrol de *Mycosphaerella fijiensis*. Se seleccionaron dos cepas de *Bacillus* spp., que produjeron metabolitos difundidos con actividad antifúngica frente a *M. fijiensis*. Sus filtrados de cultivo tuvieron efecto sobre el patógeno y la expresión de la enfermedad y este dependió de la cepa y del momento de aplicación. El filtrado de cultivo de *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 aplicado tres días posteriores a la inoculación con el patógeno redujo la biomasa fúngica, indujo cambios en la actividad de enzimas y la producción de compuestos relacionados con la defensa de la planta. A partir de los resultados se pudiera considerar la presencia de varios mecanismos involucrados en el biocontrol que se interrelaciona entre sí. En el filtrado de cultivo de CCIBP-C5 se encontraron compuestos proteicos con actividad antifúngica así como de enzimas líticas del tipo quitinasas y de lipopéptidos. Los resultados de este trabajo evidenciaron el potencial como antagonistas de *M. fijiensis* de bacterias presentes en la filosfera de cultivos de *Musa*, en las condiciones de Cuba. Se demostró que una cepa que inhibe el crecimiento del patógeno *in vitro* puede emplear varios mecanismos para ello. Específicamente, la cepa nativa de *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 aislada de la filosfera de 'FHIA-18' (AAAB) produce metabolitos con acción sobre el patógeno, la respuesta de defensa de la planta y la expresión de la enfermedad.

Palabras clave: bacterias, metabolitos, mecanismos, Sigatoka negra

Potential of *Bacillus* spp. strains isolated from *Musa* spp. phyllosphere as biocontrol agents of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Black Sigatoka control is a major challenge and requires the development of integrated management programs including biological alternatives to reduce the use of chemical fungicides. This study aimed to determine the

potential of *Bacillus* spp. strains isolated from *Musa* spp. phyllosphere as biocontrol agents of *Mycosphaerella fijiensis*. Two *Bacillus* spp. strains, that produced diffused metabolites with antifungal activity against *M. fijiensis*, were selected. Their cell-free culture had an effect on the pathogen and the disease expression, and this was dependent of the strain and the time of application. *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 cell-free culture applied three days after pathogen inoculation reduced the fungal biomass, induced changes in the activity of enzymes and the production of compounds related to plant defense. From the results could be considered the presence of several mechanisms involved in biocontrol interrelates each other. In the CCIBP-C5 cell-free culture compounds with antifungal activity, lytic enzymes chitinase type and lipopeptides they found. The results showed potential as antagonists of *M. fijiensis* of bacteria present in *Musa* cultivars phyllosphere, in Cuba conditions. It was shown that a strain that inhibits the growth of pathogens *in vitro* may employ various mechanisms for this. Specifically, the native strain of *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 isolated from phyllosphere of 'FHIA-18' (AAAB) produces metabolites that act on the pathogen, the plant defense response and the disease expression.

Key works: bacteria, black sigatoka, mechanisms, metabolites

T4.17 Influencia del ácido giberélico y jasmónico sobre la respuesta del cultivar 'Manzano' a la infección por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*

María Ileana Oloriz*, Bárbara Ocaña, Mayra Suarez, Berkis Roque, Naylin Machado, Milady Mendoza, Marilyn Hernández

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní, Km 5,5. Santa Clara, Cuba. CP5483. *maria@ibp.co.cu

Entre las enfermedades más importantes de los plátanos y bananos se encuentran el Mal de Panamá, ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. La existencia de diferentes razas de este hongo dificulta los programas de mejoramiento del cultivo. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto del ácido jasmónico y ácido giberélico sobre la respuesta de plantas del cultivar 'Manzano' a la

infección por *F. oxysporum*. Se inocularon plantas de dos meses de edad con una suspensión de micelio de *Fusarium oxysporum* raza 1 (aislado VCG 01210) a una concentración de 4.1×10^5 fragmentos de micelio/m l⁻¹. Un día después, a las plantas inoculadas se les aplicó tres tratamientos diferentes, ácido jasmónico, ácido giberélico y el control (agua). Ambas hormonas estimularon el desarrollo vegetativo de las plantas y una de ellas logró disminuir el índice de infección por *F. oxysporum* comparado con el tratamiento control. Los resultados obtenidos representan una alternativa viable para el control de la enfermedad y una posible estrategia a emplear en los programas de mejoramiento genético del cultivo.

Palabras clave: Mal de Panamá, *Musa* sp., resistencia inducida

Influence of gibberellic acid and jasmonic acid in the response of 'Manzano' cultivar to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Panama disease, is one important disease of banana and plantains, caused by the soil-borne fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. The existence of different race of this fungus hampers genetic improvement programs of the crop. The aim of this work was study the effect of jasmonic acid and gibberellic acid on the response of 'Manzano' cultivar to infection by *Fusarium oxysporum*. Plants two months old were inoculated with a mycelial suspension of *F. oxysporum* raza 1, isolated VCG 01210 at a concentration of 4.1×10^5 mycelial fragments/ml. One day postinoculation the plants were treated with gibberellic acid, jasmonic acid or water (control). The results showed that both hormones stimulated the plant vegetative growth, however only one of them managed to reduce the infection index by *F. oxysporum* compared to control treatment. The results are a promising alternative to Panama disease control and a viable strategy to genetic improvement programs of the crop.

Keyword: Panama disease, induced resistance, *Musa* sp.

T4.18 Efecto de hormonas vegetales en la respuesta diferencial del cultivar susceptible 'Grande naine' a la enfermedad Sigatoka negra

Bárbara Ocaña^{1*}, María Ileana Oloriz¹, Mayra Acosta-Suárez¹, Marilyn Hernández¹, Berkis Roque¹, Luis Rojas¹, Orelvis Portal²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní, Km 5,5. Santa Clara, Cuba. CP5483. *barbara@ibp.co.cu

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

La enfermedad Sigatoka negra es causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, un hongo hemibiotrófico que causa reducciones significativas en el área de la hoja, y sin control puede reducir hasta el 50 % del peso del racimo y causar grandes pérdidas. Las hormonas de las plantas tienen funciones adicionales como moléculas de señalización celular en la regulación de la respuesta inmune frente a patógenos. El ácido jasmónico (JA) ha sido reconocido por su capacidad para inducir la defensa sistémica frente a varios patógenos y el etileno (ET) funciona como modulador de la red de señalización de la inmunidad en las plantas. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de las hormonas JA y ET en la respuesta de defensa del cultivar susceptible 'Grande naine' frente a la Sigatoka negra. Con este propósito, plantas de tres meses de edad se asperjaron con JA, ET, e inhibidores de la biosíntesis de estas hormonas SHAM y AOA. Posteriormente, las plantas se inocularon con una suspensión micelial de *M. fijiensis*. El experimento incluyó siete tratamientos y sus respectivos controles, y fue repetido una vez. Cada semana se registró el progreso de la enfermedad en las hojas 1, 2 y 3 durante 77 días después de la inoculación. Los resultados mostraron el efecto positivo del JA sobre la respuesta de defensa del cultivar 'Grande naine' frente a *M. fijiensis*. Los resultados obtenidos contribuyen al conocimiento de la interacción *M. fijiensis*-*Musa* spp. y a trazar estrategias futuras para el mejoramiento genético del cultivo.

Palabras clave: ácido jasmónico, etileno, *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Effect of plant hormones in the differential response of the susceptible cultivar 'Grande naine' to black Sigatoka disease

The black Sigatoka disease is caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, a hemibiotrophic

fungus that causes significant reductions in the leaf area, and without control, it can reduce up to 50 % the weight of the bunch and cause huge losses. Plant hormones have additional roles as cellular signal molecules in the regulation of the immune response to pathogens. The jasmonic acid (JA) has been recognized for its ability to induce systemic defence against various pathogens and the ethylene (ET) functions as modulator of the plant immune signalling network. The objective of this research was to determine the effect of JA and ET hormones in the defence response of the susceptible cultivar 'Grande naine' to black Sigatoka. For this purpose, three months-old plants were sprayed with JA, ET, and inhibitors of the biosynthesis of these hormones SHAM and AOA. Afterwards, the plants were inoculated with a mycelial suspension of *M. fijiensis*. The experiment included seven treatments and the respective controls, and was repeated once. Each week was recorded the progress of the disease on leaves 1, 2 and 3 during 77 days post inoculation. Results showed the positive effect of JA on banana defence response to *M. fijiensis*. The results contribute to knowledge of *M. fijiensis*-*Musa* spp. interaction and outline future strategies for the genetic improvement of the crop.

Keywords: ethylene, jasmonic acid, *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

T4.19 Caracterización de la respuesta de cultivares de caña de azúcar a la roya naranja en condiciones controladas

Borys Luis Valdés^{1*}, Osmany Aday¹, Bárbara Ocaña², Marilyn Hernández², Mayra Acosta², Leonardo Rivero², Annia González Rivero³, Luis Rojas², María Ileana Oloriz²

¹Estación Territorial de Investigación de la Caña de Azúcar en Villa Clara. *boris@inicavc.azcuba.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní, Km 5,5. Santa Clara, Cuba. CP5483.

³Centro de Información y Gestión Tecnológica (CIGET). Buen viaje # 18 e/ Maceo y Parque, Santa Clara. Cuba.

La roya naranja de la caña de azúcar, causada por *Puccinia kuehnii* (Krüger) Butler, es

considerada una de las enfermedades más importantes, debido a las pérdidas en la producción de azúcar que causa en las variedades susceptibles. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la respuesta de cultivares de caña de azúcar a la roya naranja condiciones controladas. Se inocularon plantas de dos meses de edad con una suspensión de esporas obtenidas a partir de pústulas en hojas del cultivar 'C01-227' colectadas en la región central de Cuba. Previo a la preparación del inóculo, fue confirmado al microscopio óptico las características de las uredosporas de *P. kuehnii*. Las condiciones empleadas para el experimento permitieron identificar respuestas diferenciales de los cultivares a la infección por *P. kuehnii*. Algunos cultivares mostraron ser resistentes al hongo a través de interacción incompatible con una típica respuesta hipersensible. En otros casos se observó diferentes grados de susceptibilidad en los que varió considerablemente el período de latencia de la enfermedad. Los resultados obtenidos son una contribución a los programas de mejoramiento genético de la caña de azúcar.

Palabras clave: *Puccinia kuehnii* (Krüger) Butler, resistencia, *Saccharum* spp.

Characterization of response of sugarcane cultivars to orange rust in controlled conditions

Sugarcane orange rust, caused by *Puccinia kuehnii* (Krüger) Butler, is an important disease causing yield losses in susceptible cultivars. The aim of this study was to characterize the response of sugarcane cultivars to orange rust under controlled conditions. Two months-old sugarcane plants were inoculated with spore suspension obtained from pustules on leaves of 'C01-227' cultivar, with orange rust symptoms. Before inoculum preparation, the characteristics of pustules and uredospores of *P. kuehnii* were confirmed by optical microscopy. The experimental conditions used allowed to identify the differential response between sugarcane cultivars to infection by *P. kuehnii*. Some cultivars showed to be resistant to the fungus through interactions incompatible with a typical hypersensitive response. In other cultivars, different grades of susceptibility were found, with significant differences in latency period. The results are a contribution to genetic improvement programs of sugarcane.

Keywords: *Puccinia kuehnii* (Krüger) Butler, resistance, *Saccharum* sp.

T4.20 Expression analysis in planta of genes encoding for potential effectors of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black Sigatoka in bananas and plantains

Orelvis Portal¹, Bartolomé Chi-Manzanero², Rosa Grijalva-Arango², Blondy Canto-Canché²

¹Departamento de Biología, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba.
*orelvispv@uclv.cu

²Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Yucatán, México.

The black Sigatoka, caused by *Mycosphaerella fijiensis*, is considered the most destructive foliar disease of bananas and plantains worldwide. The study of the *Musa* spp.-*M. fijiensis* interaction at the molecular level is a promising option for searching candidate genes related to defense mechanisms of the plant, which can be used in genetic transformation programs as well as potential gene targets for pathogen control. However, these studies must be accompanied by a better understanding of the *M. fijiensis* infection process in *Musa* spp. The aim of this study was to analyze the expression in planta of genes encoding for potential effectors of *M. fijiensis*, involved in the infection process in *Musa* spp. For this purpose, the proteome of *M. fijiensis* was analyzed in silico to identify proteins with 6 % or more cysteine, up to 250 amino acids and signal peptide. Afterwards, some of them were selected to assess its expression profile using quantitative polymerase chain reaction in the susceptible cultivar 'Grande naine' infected with *M. fijiensis*. Forty-nine proteins showed the desired features, which coincides with some of identified *Ascomycetes* effectors. The transcriptional profile of some of the seven selected genes of *M. fijiensis* showed differential expression in the early stages of the infection process (3, 6, 9, 12 and 15 days post inoculation) compared to the expression in the mycelium of *M. fijiensis*. These results could lead to the identification of new effectors of *M. fijiensis* and the design of new strategies for the black Sigatoka control.

Keywords: Black streak leaf disease, *Musa* spp., transcription profile

T4.21 Analisis de genómica comparativa de un cluster de genes relacionados con la síntesis de melanina en *Verticillium* y especies relacionadas

Ermis Yanes-Paz^{1,2*}, Yanelis Capdesuñer Ruiz³, Jessica Mendoza Rodriguez¹, Orlando Borrás-Hidalgo⁴, Ramón Santos Bermúdez¹, Bart P.H.J. Thomma^{2*}

¹Plant-Pathogen Interaction Laboratory, Bioplants Center. PO Box 69 450, Cuba.
*eyanes@bioplantillas.cu

²Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen, The Netherlands.

³Metabolic Engineering Laboratory, Bioplants Center. PO Box 69 450, Cuba.

⁴Laboratory of Plant Functional Genomics, Center for Genetic Engineering and Biotechnology. PO Box 6162, Havana, 10 600, Cuba.

El género *Verticillium* incluye un grupo de hongos ascomicetes varios de los cuales son fitopatogénicos y causan marchitez vascular en varias especies de interés económico. *Verticillium dahliae* produce estructuras de supervivencia que contienen melanina, los microescleróticos, que son capaces de sobrevivir en el suelo por al menos 10 años. Estos microescleróticos se caracterizan por la presencia de densos depósitos de melanina negra que aparecen como gránulos dentro y en el exterior de la pared celular y actúan como antidessicante y protegen contra temperaturas extremas y lisis enzimática. Un estudio reciente encontró un cluster de genes en el cromosoma 2 *V. dahliae* Vdls17 relacionado con la biosíntesis de melanina. En este estudio se realizó un análisis de genómica comparativa para analizar la evolución de este cluster de genes en otras especies de *Verticillium* así como en otras especies relacionadas de sordariomicetes. Para ello se creó una base de datos que incluyó las secuencias de las proteínas de todos los genomas en estudio y se realizaron BLAST locales contra esta base de datos usando las secuencias de las proteínas de los genes en el cluster de *V. dahliae*. El resultado de estas búsquedas se filtró usando los e-valores e información de los dominios de estas proteínas obtenidos de la base de datos pfam. Las secuencias de los candidatos seleccionados fueron alineadas usando el algoritmo MUSCLE y

se construyó un árbol filogenético para cada gen. Los resultados indican un alto grado de conservación de la mayoría de los genes en el cluster en casi todos los 18 genomas analizados, lo que indica que estos genes podrían ser de evolución antigua entre los hongos.

Palabras clave: biosíntesis de melanina, filogenia, *Verticillium*

Comparative genomics analysis of a gene cluster related to melanin biosynthesis in *Verticillium* and related species

The genus *Verticillium* encompasses a cosmopolitan group of ascomycete fungi, including several phytopathogenic species that cause vascular wilts of several economically important plant species. *Verticillium dahliae* produces melanized survival structures, microsclerotia, which are able to survive in the soil for at least 10 years. These microsclerotia are characterized by the presence of dense black melanin deposits that appear as granules within and exterior to the cell wall and act as an anti-desiccant and protect against temperature extremes and enzymatic lysis. A recent study found a gene cluster on chromosome 2 of *V. dahliae* Vdls17 isolate related to melanin biosynthesis. In the current study we carried out a comparative genomics analysis to analyze the evolution of this gene cluster in other species of *Verticillium* as well as other related species from the sordariomycetae clade. A database including the protein sequences of all the genomes under study was built and local BLAST searches were conducted against this database using the protein sequences of the genes in the cluster of *V. dahliae*. The output of these searches was filtered using e-values and protein domain information from pfam databases. The sequences of the selected candidates were aligned using MUSCLE algorithm and a phylogenetic tree was built for each gene. The results indicate a high degree of conservation of most of the genes in the cluster in most of the 18 genomes analyzed which indicates that these genes might be on ancient evolution among fungi.

Keywords: melanin biosynthesis, phylogeny, *Verticillium*

TALLER BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN DE RECURSOS FITOGENÉTICOS

T5.1 Caracterización Morfológica y Molecular de materiales de Pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en la provincia de Lengupá, Departamento de Boyacá, Colombia

Ana Cruz Morillo Coronado*, Yeily Paola Tovar León, Jesika Alejandra Moreno Morales, Yacenia Morillo Coronado

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Universidad de los Llanos. Avenida Central Norte N° 39 115.

*ana.morillo@uptc.edu.co

La pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) es un cactácea silvestre, nativa de la región andina que se ha constituido en un renglón importante para la economía del departamento de Boyacá. La presente investigación busca identificar la diversidad genética existente en los municipios productores de la provincia de Lengupá; para lo cual se realizó la caracterización morfológica en 25 genotipos, usando 27 descriptores de los cuales 18 son caracteres cuantitativos y 9 cualitativos para filocladodios y frutos. Con base en el análisis de componentes principales se encontró que en los primeros cuatro componentes (CP4) se explica el 71.41 % de la variación entre genotipos en las características de filocladodios y para frutos se explica dicha variación con un 71.14 %. El análisis de conglomerados jerárquicos mostró la consolidación de cuatro grupos: primer grupo con 8 genotipos, segundo 4 genotipos, tercero 9 genotipos y cuarto con 4 genotipos. La caracterización molecular se hizo usando siete marcadores RAMs. Se generaron un total de 154 bandas con pesos moleculares entre 300 y 1450 Kb. A un coeficiente de similaridad de 0.60, se formaron dos grupos de forma muy laxa. El valor promedio de heterocigosidad fue de 0.34 mucho más bajo que lo reportado en otros estudios de diversidad genética en cactáceas, pero más alto que lo encontrado hasta el momento en pitahayas en Colombia usando la técnica RAMs. Por lo tanto, existe variabilidad genética en los materiales de pitahaya amarilla de la provincia de Lengupá la cual puede ser aprovechada en estrategias de mejoramiento genético.

Palabras clave: Cactaceae, descriptores morfológicos, diversidad genética, Microsatélites RAMs

Morphological and Molecular characterization materials of pithaya (*Selenicereus*

***megalanthus* Haw.) in the Lengupá province, Department of Boyacá, Colombia**

The yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.) is a wild cactus native to the Andean region that has become an important line to the Boyacá department's economy. The current investigation seek to find the genetic diversity in the producing municipalities of Lengupá province; for which it was made the morphological characterization in 25 genotypes, using 27 descriptors which 18 are quantitative and 9 are qualitative traits to filocladodios and fruits. Based on the analysis of main compounds it was found that in the first 4 compounds (CP4) was shown the 71.41 % of the variation between genotypes in the filocladodios character, and 71.14 % was found to fruits. The Hierarchical cluster analysis showed the consolidation of four groups: The first one with 8 genotypes, the second one with 4 genotypes, the third one with 9 genotypes and fourth one with 4 genotypes. The molecular characterization was made using 7 RAMs markers. 150 bands were generated with molecular weight between 300 and 1450 Kb. At 0.60 of similar coefficient, it was taken 2 groups in a loose way. The average value of heterozygosity was 0.34 lower than previous reporters of genetic diversity in cactus, but higher than the results so far in Colombian pitahayas using the RAMs technique. Therefore, there is genetic variability in the yellow pitahaya materials in Lengupá province, which can be harnessed in genetic development strategies.

Keywords: Cactaceae, Morphological descriptors, genetic diversity, Microsatellite RAMs

T5.2 Diseño de nuevos cebadores SSR para la caracterización molecular del germoplasma de *Ananas comosus* (L.) Merrill

Daymara Rodríguez¹, Miriam Isidró¹, D Alfonso¹, S Petit², MJ Grajal², JI Hormaza³

¹Laboratorio de Biotecnología, Universidad Agraria de La Habana, km 23 ½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700. *maviak@isch.edu.cu

² Instituto Canario de Investigaciones Agrícolas, Apartado 60, 38200 La Laguna, S/T Tenerife, España.

³ Estación Experimental "La Mayora", CSIC, Algarrobo-Costa, Málaga, 29750, España.

La diversidad genética de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merrill), ha sido poco estudiada con el marcador molecular tipo SSR. Se evaluaron los microsatélites diseñados previamente para esta especie y la efectividad y la transferibilidad de los desarrollados a partir de otras especies del mismo género en la caracterización molecular de seis genotipos de piña. De esta forma se utilizaron los 20 microsatélites desarrollados específicamente para piña por Kinsuat y Kumar (2007), de los cuales solo pudieron utilizarse directamente dos y se rediseñaron cuatro de ellos. Además se diseñaron 10 nuevos cebadores a partir de secuencias de *Ananas bracteatus* (L.) Merrill informadas en el Genbank que amplificaron muy bien con el germoplasma de piña. El total de alelos polimórficos detectado fue de 26, con un valor medio de 2.6 alelos/locus. La media de la heterocigosidad esperada (He) fue de 0.56, con valores que variaron desde 0.32 en los loci ACLR179BMb y ANBR75, hasta 0.73 en ANBR81, la heterocigosidad observada (Ho) presentó una media de 0.47, con valores que van desde los 0.17 en ANBR75 y ACLR179BMb a 0.83 en ACLR179Bma. Más de la mitad de los loci presentan menor valor de la Ho con respecto a la He. Los valores del Índice de fijación de Wright (F) muestran un déficit de heterocigotos en 6 loci (60 %). Los valores de similitud genética entre los genotipos, presentaron una media de 0.75, el valor más alto se observó entre 'Piña blanca' y 'Española roja' que se encuentran en 0.87. El uso del marcador molecular SSR fue útil en el estudio de diversidad genética y en la identificación molecular de genotipos de piña.

Palabras clave: *Ananas bractearus*, germoplasma, marcador molecular, SSR

SSR primers new design for molecular characterization germplasm *Ananas comosus* (L.) Merrill

Simple Sequence Repeats (SSR), also known as microsatellites, have not been used extensively to study the genetic diversity of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill). Microsatellites previously designed for this species and the effectiveness and transferability of developed from other species of the same genus in the molecular characterization of six genotypes were evaluated pineapple. Of the twenty microsatellite primer pairs specifically developed for pineapple previously reported in the literature, only six were useful: two could be used directly and four could be used after redesign of the primers. In addition,

10 additional new primers were designed based on *A. bracteatus* sequences deposited in Genbank, which performed well for SSR amplification in pineapple germplasm. A total of 10 SSRs were selected that allowed the detection of 26 polymorphic alleles in 6 different pineapple genotypes, averaging 2.6 alleles/locus. Average expected heterozygosity (He) was 0.56, and average observed heterozygosity (Ho) was 0.47. Ho was lower than He for over half of the studied loci. According to Wright's fixation index (F) there is a heterozygote deficit in 6 loci (60 %). Average genetic similarity between the studied genotypes was 0.75. The use of the SSR markers described in this work will allow the optimization of pineapple cultivar fingerprinting and diversity studies in germplasm collections.

Keywords: *Ananas bracteatus*, germplasm, molecular markers, SSR

T5.3 Efecto de la desecación en indicadores fisiológicos y bioquímicos asociados a la germinación y vigor de semillas crioconservadas de *Nicotiana tabacum* L. cv 'Sancti Spíritus 96'

Juan Luis Pérez-Rodríguez^{1*}, René C. Rodríguez Escriba², Gustavo Y. Lorente González², Marcos E. Martínez-Montero² y Justo L. González Olmedo²

¹UCTB Estación Experimental Cabaiguán. Carretera Santa Lucía, Km 2, Cabaiguán, CP 62 410, Sancti Spíritus, Cuba.
*espec.banco@eetcab.co.cu

²Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila, Carretera Morón, Km 9, Ciego de Ávila, CP 69 450, Ciego de Ávila, Cuba.

A nivel mundial se han realizado varias investigaciones en la crioconservación como alternativa a los métodos tradicionales de almacenamiento de semillas. La humedad con la que se crioconserva la semilla se identifica como un factor determinante en su longevidad. No obstante, no existe suficiente información sobre el efecto de la desecación en indicadores fisiológicos y bioquímicos asociados a la germinación y el vigor de semillas crioconservadas. Semillas de *Nicotiana tabacum* L. cv 'Sancti Spíritus' 96 ('SS96') se desecaron hasta 18.0, 13.0, 8.0, 4.2, 2.1, y 1.0 % (base masa fresca) y se conservaron en nitrógeno líquido por

30 días o a 5°C por igual periodo. Transcurrido este tiempo, las semillas crioconservadas se descongelaron lentamente a 25°C o de forma acelerada a 40°C. Se consideraron los parámetros potencia germinativa (PG), envejecimiento acelerado (EA) y escape de electrolitos (EE). Además, se determinó la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), así como la concentración de malondialdehídos (MDA) y otros aldehídos (OA). Se estableció que la descongelación lenta de la semilla crioconservada provoca una reducción de su PG a humedades superiores a 8.0 %, lo que está en correspondencia con la disminución de la actividad SOD y CAT y con el aumento en la concentración de MDA y OA. Así mismo, se identificó un deterioro mayor en las semillas conservadas a 5°C con altos niveles de humedad, al compararlas con las crioconservadas, reflejado en los valores de PG. Tal pérdida de viabilidad se manifiesta en un aumento en la concentración de MDA, OA y en la sensibilidad a la prueba de EA y EE. A partir de los resultados anteriores, se identificó que el valor de humedad crítico para las semillas crioconservadas de 'SS96' se encuentra en la vecindad de 2.1 %.

Palabras clave: desecación, estrés oxidativo, semilla, tabaco

Effect of desiccation on physiological and biochemical indicators associated with seed cryopreservation *Nicotiana tabacum* L. cv 'Sancti Spiritus 96'

There have been carried out several investigations dealing with criopreservation as an alternative to seeds storage traditional methods all around the world. Seed cryopreservation humidity has been identified as a decisive factor in its longevity. Nevertheless, there is not enough information about the effect of the drying on physiologic and biochemical indicators associated to the germination and the vigor of cryopreserved seeds. *Nicotiana tabacum* L. cv 'Sancti Spiritus 96' ('SS96') seeds were dried up to 18.0, 13.0, 8.0, 4.2, 2.1, and 1.0 % (fresh weight basis) and they were conserved in liquid nitrogen by 30 days or to 5 °C equally period. Lapsed this time, cryopreserved seeds were slowly thawed to 25°C or in a quick way to 40 °C. Parameters as germinative power (PG), quick aging (EA) and electrolytes escape (EE) were considered. Activity of the superoxide dismutase enzyme (SOD) and catalase (CAT) were also determined, as well as

the malondialdehydes (MDA) and other aldehydes (OA) concentration. It was established that the slow thawing of cryopreserved seed causes a reduction of its PG at moisture levels superior to 8.0 %, which is in correspondence with the decrease of the activity SOD and CAT and the increase in of MDA and OA concentration. Likewise, a bigger deterioration was identified in the seeds conserved at 5°C with high humidity levels, when comparing them with the cryopreserved ones, reflected in the values of PG. Such a loss of viability is manifested in an increase in the concentration of MDA, OA and in the sensibility to the test of EAA and EE. From the above results, it was identified that the critical moisture content for cryopreserved seeds of 'SS96' variety is in the vicinity of 2.1 %.

Keywords: Desiccation, oxidative stress, seed, tobacco

T5.4 Restauración de los principales índices ecológicos de la mesofauna en un suelo afectado por el cultivo de tabaco

Leonardo Hurtado Luna, Blas Pérez, Guillermo Quintana Vara, Antonio Núñez Mansito y Yoan Rodríguez Marrero.

Estación Experimental del Tabaco Cabaiguán. Carretera Santa Lucía Km 2 Cabaiguán Sancti Spiritus. Cuba. *biólogo@eetcab.co.cu

Se realizó un estudio durante los años 2007, 2008 y 2009 en un área descartada para el cultivo en la Estación Experimental del Tabaco Cabaiguán con el propósito de evaluar los cambios en los índices ecológicos (Riqueza, Frecuencia de ocurrencia de Walwork, 1976, Diversidad Brillouin y el índice de Similitud de Jaccard) de taxa de la mesofauna de un suelo degradado por el cultivo intensivo de tabaco, tras la incorporación sucesiva de *Crotalaria juncea* L. como abono verde, comparándolos con los de una parcela demarcada dentro de una arboleda colindante y con más de 70 años de establecida. Diez puntos en cada parcela funcionaron como estaciones de muestreo cada año. La extracción se efectuó mediante embudos de Berlese. Los valores de los índices ecológicos se incrementaron en años consecutivos de evaluación, consecuentes con la mejora orgánica. Taxa reconocidas como descomponedoras de materia orgánica y mejoradoras de la porosidad y aireación del suelo (Acari, Collembola, Coleoptera e Hymenoptera)

alcanzaron valores absolutos de aparición (100 % de las muestras). El cálculo del Índice de Calidad Biológica del Suelo también mostró clara tendencia al incremento en suelo del tabacal. El uso del *Crotalaria juncea* L. en alternancia con el cultivo de tabaco permitió la restauración de los principales índices ecológicos de taxa de la mesofauna en un afectado por el cultivo intensivo de tabaco, y por tanto, la recuperación de su uso como área de cultivo.

Palabras clave: diversidad, mesofauna, restauración, suelo, tabaco

T5.5 Caracterización morfológica y genética de poblaciones de 'Amarillo de guayaquil' (*Centrolobium ochroxylum* Rudd) de Ecuador

José Enrique Nieto-Rodríguez*¹, Sanjuana Hernández-Delgado² Netzahualcoyotl Mayek-Pérez²

¹Unidad de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Quito km 1 ½. Quevedo, Ecuador. CP 0 073. *jnieto@uteq.edu.ec

²Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro s/n esq. Elias Piña, Col. Narciso Mendoza.

El *Centrolobium ochroxylum* es un recurso genético forestal endémico de Ecuador, poseedor de un alto potencial productivo. Esta especie se distribuye a lo largo del Litoral Ecuatoriano pero debido a la fuerte presión extractiva a la cual ha sido últimamente sometida sus poblaciones naturales se han visto disminuidas al grado de clasificarla como especie amenazada. Por razones como la citada resulta necesario diseñar estrategias dirigidas a su rescate, conservación y mejora genética. El conocimiento de la diversidad genética del *C. ochroxylum* proporcionará una mejor visión para la conservación y manejo en su calidad de recurso fitogenético. El objetivo principal de este trabajo fue caracterizar la diversidad y las relaciones genéticas del germoplasma de *C. ochroxylum* existente en Ecuador. La investigación incluyó 96 accesiones colectadas a través de tres macrositios que incluyeron 11 poblaciones del bioma bosque seco tropical del Ecuador, mismas que fueron caracterizadas con descriptores morfológicos, marcadores moleculares (AFLP) y secuencias ITS. Los resultados indicaron variabilidad

morfológica significativa en el germoplasma de *C. ochroxylum*. El ACP de los datos morfológicos explicó alrededor del 86 % de la variación total observada en los primeros tres CPs. Las características más descriptivas fueron las relacionadas con el fuste. El análisis AFLP amplificó 298 bandas de las cuales el 97.07 % fueron polimórficas, mostrando como las más variable en términos de diversidad genética a las poblaciones pertenecientes al macrostio Manabí. El análisis de conglomerados de datos AFLP y regiones ITS formó dos grupos genéticos con base en el origen, con altos valores de robustez. El análisis de la estructura genética de las poblaciones con enfoque Bayesiano mostró su mejor ajuste con $K = 3$. Finalmente podemos mencionar que a partir de los datos genéticos se pudo inferir el posible sitio de origen y posterior movimiento migratorio del *C. ochroxylum* en el Ecuador.

Palabras clave: AFLP, *Centrolobium*, diversidad genética, ITS, marcadores moleculares,

T5.6 ISSR based molecular phylogeny in naturally growing *Suaeda* populations of Saudi Arabia

Mohammed Basahi

Shaqra University Saudi Arabia *mbasahi@hotmail.com

The objective of the present study was to identify the phylogenetic relationships and determine genetic diversity among *Suaeda* genotypes growing in Saudi Arabia and to find out whether these could be a potential source for genetic diversity. A set of nineteen genotypes was analyzed using twenty-four ISSR primers. Clear amplified polymorphic DNA products were obtained from the screening of twenty-four ISSR primers on nineteen genotypes that allowed selection of ten primers and the results were reproducible. The nineteen genotypes revealed a unique profile with ten ISSR primers and thus can be used for the DNA fingerprinting. Different primers produced a different level of polymorphism among the nineteen genotypes. The number of polymorphic bands per primer varied from 5 to 14 with an average of 8 bands per primer. The results revealed that the genotypes differed for ISSR markers. The genetic similarity based on Nei and Li's ranged from 0.450 to 0.930. Cluster analysis was conducted based on

ISSR data to group the *Suaeda* genotypes and to construct a dendrogram. Four groups can be distinguished by truncating the dendrogram at GS value of 0.54. ISSR markers showed high level of polymorphism among the genotypes examined. The present study indicates that ISSR markers could be successfully used in genetic characterization and diversity in *Suaeda*.

T5.7 Caracterización genética de genotipos cubanos de yuca revelada con marcadores microsatélites (SSR) y de polimorfismo de nucleótido simple (SNPs)

Yoel Beovides*, Osmany Molina, Daniel Rodríguez, Aymé Rayas, Víctor Medero, Diosdada Gálvez, Arletys Santos, Milagros Basail, Dayana Rodríguez, Yenisey Gutiérrez, Jorge López

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apdo 6, Santo Domingo CP 53 000, Villa Clara, Cuba. *biomol.biotec@inivit.cu

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es uno de los cultivos más importantes para la seguridad alimentaria en los trópicos y en los últimos años se ha incrementado su valor desde el punto vista agroindustrial. Un requisito imprescindible para un mejor uso del germoplasma conservado es realizar estudios basados en técnicas moleculares; en ese sentido es importante hallar que marcador molecular puede ser más informativo. En esta investigación se realizó la caracterización de la diversidad genética de 50 accesiones cubanas de yuca mediante 34 marcadores microsatélites (SSR) con amplia cobertura en el genoma de yuca y 12 marcadores tipo SNPs (polimorfismo de nucleótido simple) los cuales se diseñaron especialmente a partir de genes relacionados con la ruta metabólica del almidón y con alta homología con las secuencias ESTs de yuca. Con los SSR se detectaron 17 alelos únicos o con baja frecuencia de aparición (menor al 10 %) entre las accesiones cubanas, superior a los hallados con los SNPs. En general, la variación genética que se capturó por los SSRs fue muy superior al caso de los marcadores de SNP pero ellos también fueron útiles. Los resultados revelan la existencia de variabilidad genética en todas las colecciones estudiadas, lo que es de utilidad para mejorar las estrategias nacionales de conservación de esa fuente de genes y estimular el intercambio de germoplasma, especialmente para Cuba. Este es el primer estudio que se

realiza en el germoplasma cubano de yuca utilizando ambos tipos de marcadores para evaluar la diversidad genética disponible.

Palabras clave: diversidad genética, germoplasma, microsatélites, SNPs, yuca

Genetic characterization of Cuban cassava genotypes revealed with microsatellite markers (SSR) and single nucleotide polymorphisms (SNPs)

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the most important crops for food security in the tropics and in recent years has increased its value from the agroindustrial point of view. A prerequisite for better use of the conserved germplasm is to studies based on molecular techniques; in that sense it is important to find molecular marker may be more informative. In this research the characterization of the genetic diversity of 50 Cuban cassava accessions was performed using 34 microsatellite markers (SSR) with extensive coverage in the genome of cassava and 12 markers such SNPs (single nucleotide polymorphism) which is specially designed from of genes related to the metabolic pathway of starch and high sequence homology to ESTs cassava. SSR with 17 unique or low frequency of alleles (less than 10%) among Cuban accessions, superior to those found with the SNPs were detected. In general, genetic variation that was captured by SSRs was much higher than if the SNP markers but they were also useful. The results reveal the existence of genetic variability in all collections studied, which is useful to improve national conservation strategies that source of genes and stimulate the exchange of germplasm, especially for Cuba. This is the first study carried out in the Cuban cassava germplasm using both types of markers to evaluate the genetic diversity available.

Keywords: genetic diversity, germplasm, microsatellites, SNPs, cassava

T5.8 Biodiversidad y conservación de los recursos fitogenéticos del género *Nicotiana* en Cuba

Mileidy Cabrera Esmory, Gilberto Torrecilla Guerra, Yoan Rodríguez Marrero, Juan Luis Pérez Rodríguez

Instituto de Investigaciones del Tabaco. Estación Experimental de Cabaiguán. Carretera Santa

Lucia Km 2. Cabaiguán. Sancti Spiritus.
*exptabcab@enet.cu

La preservación de los recursos genéticos del género *Nicotiana* actualmente constituye una importante prioridad, tanto para trabajos de investigaciones básicas, como para el establecimiento de nuevas plantaciones del cultivo. El banco de germoplasma de tabaco es uno de ejemplos de la contribución que la ciencia pueda ser a la lucha contra erosión genética de la especie *Nicotiana tabacum* L. Durante más de 40 años se ha reunido y conservado una amplia gama de germoplasma del cultivo; en el curso del tiempo se han acumulado 905 accesiones. Una parte de los materiales conservados en el banco de genes provienen de colectas realizadas en el país y el resto ha sido donado por fitomejoradores y otros bancos de germoplasmas del mundo. Las colecciones se guardan en custodias para el uso de investigaciones; un 18 % de las muestras corresponden a variedades tradicionales, locales y cultivares avanzados del país y el resto son obtenidas por la vía de introducción foránea. Los materiales contienen inmensas reservas de la diversidad genética por lo cual resulta particularmente útil en el mejoramiento del cultivo. La colección ha aportado enormes beneficios a la producción tabacalera y ha prestado asistencia al sistema de investigación y educación. Dicho trabajo ha dado lugar a un algoritmo de trabajo, una lista de descriptores y publicaciones que se consultan para llevar a cabo el estudio y la conservación de germoplasmas.

Palabras clave: banco de germoplasma, descriptores, tabaco

T5.9 Caracterización molecular con microsatélites amplificados al azar (RAMs) de Inchi (*Caryodendron orinocense* K.)

Ana Cruz Morillo Coronado¹, Liseth Gómez Beltrán², Iván A. Ávila Morales², Ernesto Andrade², Yacenia Morillo-Coronado^{2*}

¹Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) Tunja. Colombia.
*ana.morillo@uptc.edu.co

²Universidad de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Meta, Colombia. Km 12 Vía Puerto López.

El Inchi o Cacay (*Caryodendron orinocense* Karsten) es una de las especies más promisorias de la Amazonia y la Orinoquia colombiana. El principal producto del Cacay son sus almendras, de las que se extrae un aceite con aplicaciones cosméticas, Fitoterapéuticas y alimenticias, además presenta un alto contenido de antioxidantes como los Omega 3, 6 y 9 y Vitaminas como la A y E. No existen estudios sobre la caracterización de este recurso fitogenético, por lo cual el objetivo de esta investigación fue caracterizar su diversidad genética usando marcadores Microsatélites Amplificados al Azar (RAMs). El análisis de similitud al 0.50 formó cuatro grupos de acuerdo al sitio geográfico, siendo los materiales procedentes de Putumayo, Cacayal 19, Pauna y Castilla los de menor similitud. Los valores de heterocigosidad estimada fueron de 0.16 y 0.28 para el CGA y GT, respectivamente. El porcentaje de loci polimórfico varió entre 55 % para el cebador CGA y el 90 % para el GT. El valor de Fst promedio para los 27 materiales estudiados fue de 0.35, mostrando que la dinámica espacio-temporal de los materiales de *Caryodendron* tienden hacia una diferenciación genética, propio de sus procesos evolutivos y de domesticación

Palabras clave: cacay, diversidad genética, domesticación, flujo genético, marcadores moleculares

Molecular characterization with random amplified microsatellites (RAMs) of Inchi (*Caryodendron orinocense* K.)

The Inchi or Cacay (*Caryodendron orinocense* Karsten) is one of the most promising species of the Amazon and Orinoco Colombian. The main product of Cacay are its almonds, from extracted oil cosmetic, phytotherapeutic and food applications, also has a high content of antioxidants such as Omega 3, 6 and 9 and vitamins like A and E. There are no studies on the molecular characterization of this plant genetic resource; therefore the objective of this research was to characterize the genetic diversity using Random Amplified Microsatellite markers (RAMs). The similarity analysis to 0.50 formed four groups according to geographical location, being materials from Putumayo, Cacayal 19, Pauna and Castilla lowest similarity. Estimated heterozygosity values were 0.16 and 0.28 for the primers CGA and GT, respectively. The percentage of polymorphic loci ranged from 55 % for the primer CGA and 90 % for the GT. The average Fst value

for the 27 materials studied was 0.35, showing the space-temporal dynamics of materials *Caryodendron* tend toward genetic differentiation, due to their own evolutionary processes and domestication incidence.

Keywords: cacay, domestication, genetic diversity, genetic flow, molecular markers

T5.10 Variabilidad genética de palmas silvestres del género *Euterpe* con marcadores moleculares RAMs

Karem Mendoza Romero, Christian Camilo Castañeda Cardona, Jaime Marín Colorado, Salvador Rojas, Yacenia Morillo Coronado*

Universidad de los Llanos. Colombia. Meta, Colombia. Km 12 Vía Puerto López. *ymorillo@unillanos.edu.co

Uno de los grupos de plantas de mayor importancia económica y cultural para los grupos humanos han sido las palmas (Arecaceae), ya que constituyen una parte importante de los ecosistemas por su función, sirven como hábitat para un amplio rango de fauna, algunas son especies clave y en su mayoría sirven como proveedores de alimento, capturan carbono e intervienen en el ciclo hidrológico. El objetivo principal de este trabajo de investigación fue evaluar la diversidad genética de palmeras silvestres *Euterpe precatoria* y *E. oleracea* de la región de la Orinoquía, la Amazonía y el Pacífico Colombiano con marcadores moleculares RAMs. Se generaron 127 alelos, el número de loci polimórfico varió entre 39 y 78 para los cebadores AG y CA, respectivamente. Se encontró una alta diversidad genética, con una heterocigocidad total de 0.46, y un alto porcentaje de loci polimórficos del 71 %. El estudio de diversidad genética diferenció los 27 genotipos en cinco grupos con una similaridad de 0.47, donde el grupo 2 albergó la mayor cantidad de genotipos de palma procedentes de la Orinoquía. Se encontró que la variabilidad genética entre las tres regiones analizadas es menor (7 %) que la encontrada dentro de cada región (93 %). La técnica RAMs permitió discriminar a los genotipos de acuerdo a su lugar de procedencia. La información generada en este estudio será utilizada en las actividades de caracterización, conservación, domesticación y mejoramiento genético del género *Euterpe*.

Palabras clave: *Euterpe* spp, diversidad genética, flujo genético, marcadores moleculares

Genetic variability of wild palm genus *Euterpe* with molecular markers RAMs

One of the groups of plants of greater economic and cultural importance for human groups have been Las Palmas (Arecaceae), as they constitute an important part of the ecosystems by its function, serve as habitat for a wide range of wildlife, some are key species and the most serve as food suppliers, capture carbon and intervene in the hydrological cycle. The main objective of this research work was to evaluate the genetic diversity of wild palms *Euterpe precatoria* and *E. oleracea* in the region of the Orinoco region, Amazon and the Colombian Pacific with molecular markers RAMs. A total of 127 alleles were generated, the number of polymorphic loci ranged between 39 and 78 for the primers AG and CA, respectively. A high genetic diversity with a total heterozygosity of 0.46, and a high percentage of polymorphic loci of 71 % was found. The study of genetic diversity differentiated the 27 genotypes in five groups with a similarity of 0.47, where group 2 hosted the largest number of palm genotypes from the Orinoquía region. It was found that the genetic variability among the three regions analyzed is lower (7 %) that found within each region (93 %). The RAMs technique allowed to discriminate genotypes according to their place of origin. The information generated in this study will be used in the activities of characterization, conservation, domestication and genetic improvement of the genus *Euterpe*.

Keywords: *Euterpe* spp, genetic diversity, genetic flow, molecular markers

OTRAS TEMÁTICAS

T6.1 Aproximación al análisis del dominio embriogénesis somática a través de las bases de datos: Agris y SCOPUS

Yurisleidy Silva Gutierrez^{1*}, Maydelis Menéndez Gómez¹, Aida María Torres Alfonso²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de las Villas. Carretera a Camajuani Km 5.5. Santa Clara. Cuba. CP 54 830. *yurisleidy@ibp.co.cu

²Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Centro de Estudios de Educación.

La Embriogénesis Somática es considerada el método más eficiente en la producción masiva de plantas *in vitro*. Debido a la naturaleza bipolar del embrión y la facilidad con que puede ser automatizado el proceso productivo, los altos coeficientes de multiplicación en cortos períodos de tiempo al poder aplicarse los principios de la cinética microbiana y la posibilidad de encapsular estas estructuras y obtener semillas artificiales. En la presente investigación se propuso identificar el conjunto de registros publicados en la temática embriogénesis somática, para realizar un análisis de dominio de la misma aplicando dos de los enfoques propuestos por Hjørland. Este trabajo pretende realizar un acercamiento a la visualización del dominio embriogénesis somática en el mundo a partir del análisis de la producción científica de las bases de datos Agris y SCOPUS. Para facilitar el logro de los resultados se identificaron los fundamentos teóricos para el análisis de dominio temático como una forma de Análisis de Dominio. Se examinaron los enfoques Bibliométricos y de Estructuras e instituciones en la comunicación científica y su utilización en un análisis de dominio temático. Las variables utilizadas para el desarrollo del trabajo fueron: países, autores, instituciones, revistas, idioma y año. Para la obtención de los resultados cuantitativos se utilizaron los indicadores unidimensionales y multidimensionales, siendo estos fundamentales para representar y evaluar los resultados de la investigación. Se presentaron los autores más productivos, lo que nos permitió identificarlos. Se determinó la productividad de las instituciones que abordan esta temática y se representaron los países con mayor producción científica en los últimos 10 años. Fue utilizada como fuente de información primaria las bases de datos Agris y SCOPUS.

Palabras clave: Agris, análisis de dominio, embriogénesis somática, SCOPUS

Approach to the analysis of somatic embryogenesis domain through the databases: Agris and SCOPUS

Somatic embryogenesis is considered the most efficient method for mass production of plants *in vitro*. Due to the bipolar nature of the embryo and that can be easily automated production process, the high multiplication coefficients in short periods of time at the beginning of the microbial kinetics

and the ability to encapsulate these structures and get applied to artificial seeds. In the present study it sets out to identify the set of records published on the subject somatic embryogenesis, for analysis in the same domain using two approaches proposed by Hjørland. This paper aims to make an approach to the display of somatic embryogenesis dominance in the world based on the analysis of the scientific production bases Agris data. To facilitate the achievement of the results the theoretical foundations for the analysis of subject domain as a form of Domain Analysis identified. Bibliometric and structures and institutions in scientific communication approaches and use in a subject domain analysis were examined. The variables used to develop the study were: countries, authors, institutions, magazines, language and year. To obtain quantitative results one-dimensional and multidimensional indicators were used, these being fundamental to represent and evaluate the results of the investigation. The most productive authors were presented, which enabled us to identify them. Productivity of institutions that address this issue and countries with scientific production in the last 10 years accounted determined. It was used as the primary source of information AGRIS database.

Keywords: Agris, domain analysis, somatic embryogenesis, SCOPUS

T6.2 Comportamiento de la comunicación científica sobre biotecnología, plantas y cáncer en la base de datos SciELO Cuba

María de los Ángeles González Valdés*

Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas. Universidad de Ciencias Médicas. Ave. 50 y calle 51 A. Cienfuegos. Cuba. *referencia3@spicm.cfg.sld.cu

La producción de conocimiento científico biotecnológico crece anualmente y la forma en que se disemina varía. La base de datos SciELO Cuba, orientada al servicio de la comunidad científica, ha publicado en algunas de las revistas de su colección los resultados de las investigaciones de biotecnología relacionadas con las plantas y el cáncer. El presente trabajo tuvo como objetivo identificar el comportamiento de la comunicación científica sobre biotecnología vegetal relacionada con el cáncer en la base de Datos SciELO Cuba. Se filtró la información de las

57 revistas vigentes de la colección de la biblioteca de la base de datos SciELO Cuba con las palabras clave seleccionadas previamente y su combinación con los operadores booleanos. La comunicación científica de las investigaciones de biotecnología relacionadas con las plantas y el cáncer se reflejó a través de 69 artículos, destacándose la Revista Cubana de Farmacología, la Revista Cubana de Plantas Medicinales, la Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas y la Revista Biotecnología Aplicada. La comunicación científica a través de la base de Datos SciELO Cuba, como fuente de información y consulta, permite la socialización del conocimiento a los científicos, docentes y especialistas sobre las potencialidades de las plantas para las afecciones oncológicas.

Palabras clave: base de datos, biotecnología, cáncer, comunicación científica, plantas, SciELO Cuba

Behavior of scientific communication on biotechnology, plants and cancer in database SciELO Cuba

The production of scientific biotechnology knowledge grows annually and the way in which is disseminated may vary. The database SciELO Cuba, service-oriented to scientific community, has published in some of the magazines of its collection the results of research related to biotechnology, plants and cancer. The objective is to identify the behavior of scientific communication related to biotechnology, plants and cancer in the database SciELO Cuba. Data from the current 57 magazines collection library's database SciELO Cuba was filtered with the keywords previously selected and combining them with Boolean operators. The communication of scientific research related to biotechnology, plants and cancer was reflected through 69 items, highlighting the Cuban Journal of Pharmacology, the Cuban Journal of Medicinal Plants, the Cuban Journal of Biomedical Research and Journal of Applied Biotechnology. Scientific communication through the database SciELO Cuba, as a source of information and consultation, allows to scientists, teachers and specialists the socialization of knowledge about the potential of plants to oncological diseases.

Keywords: biotechnology, cancer, database, plants, SciELO Cuba, scientific communication

T6.3 Publicaciones digitales del INIVIT: una alternativa para la comunicación científica

Carmen Pons Pérez*, Luis Ruiz Martínez, Osmany Molina Concepción, Sergio Rodríguez Morales, Víctor Medero Vega, Yoel Beovides García, Pedro Sánchez Socarras y Raquel Rojas Mirón

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba. CP 53 000. *bioinformatica@inivit.cu

El vertiginoso avance de las tecnologías de la información y la comunicación ha desencadenado una explosión sin precedentes, y a partir de ahí, con la incorporación extensiva de *internet* en los centros de investigación y universidades se ha incrementado considerablemente el flujo de información científica. Las revistas digitales y los boletines electrónicos han tenido gran repercusión, y día tras día, juegan un rol fundamental para la comunicación científica. No obstante, aún existen limitaciones y no siempre se encuentra la literatura de carácter científico técnica con acceso libre y sin restricciones. Ante esta situación, el INIVIT ha diseñado un boletín electrónico y una nueva revista en formato digital, con la finalidad de proporcionar a los usuarios potenciales información de *acceso abierto*, que garantice la difusión y aplicación de los resultados de la investigación científica en las ciencias agropecuarias, y en particular una de sus principales temáticas lo constituye la biotecnología vegetal. El diseño e implementación de la revista se realizó sobre la plataforma de *Open Journal System*, que permite realizar vía *web* la gestión de todo el proceso editorial. La revista "Agricultura Tropical" es una publicación digital en *open access* orientada a la divulgación de artículos científicos con perfil agropecuario y biotecnológico, desde una perspectiva multidisciplinaria, se compone de un volumen anual con dos números semestrales, y el "Boletín INIVIT" posee una frecuencia trimestral. Ambos, resultan excelentes herramientas de producción y actualización de contenidos informativos en manos de los investigadores, docentes y especialistas, lo que les permite revisar y manejar con mayor rapidez grandes volúmenes de información con imágenes ilustrativas *on line* en *internet*. También, contribuyen a fortalecer la comunicación científica, así como a incrementar la difusión, socialización y visibilidad de los resultados de las ciencias agropecuarias y la biotecnología internacionalmente.

Palabras clave: acceso abierto, comunicación científica, Open Journal System, revistas científica, revistas digital

INIVIT digital publications: an alternative to scientific communication

The rapid advancement of information and communications technology has unleashed an unprecedented explosion, and from there, to the extensive incorporation of *internet* research centers and universities has greatly increased the flow of scientific information. Digital journals and newsletters have had great impact, and day after day, play a fundamental role in scientific communication. However, there are still limitations and can't always find the technical scientific literature with free and unrestricted access. In this situation, the INIVIT designed an electronic newsletter and a new magazine in digital format, in order to provide information to potential users *open access* to ensure the dissemination and application of results of scientific research in agricultural sciences and in particular one of its main themes is the plant biotechnology. The design and implementation of the magazine was made on the platform *Open Journal System* which allows *web-management* throughout the editorial process. The journal "Agricultura Tropical" is a digital publication in *open access* oriented dissemination of scientific articles with agricultural and biotechnological profile, from a multidisciplinary perspective, it consists of an annual volume with two semiannual issues, and the "Boletín INIVIT" has a quarterly frequency. Both are excellent tools of production and updating of information contained in the hands of researchers, professors and specialists, allowing them to review and manage more quickly large volumes of information with illustrative images *on line* on the *Internet*. Also they contribute to strengthening scientific communication and to further the dissemination, socialization and visibility of the results of the agricultural sciences and biotechnology internationally.

Keywords: digital journals, open access, Open Journal System, scientific communication, scientific journals

T6.4 Gestión de los recursos fitogenéticos de tabaco mediante el uso de las tecnologías de la información y las comunicaciones

Ramiro Agras Hechavarría*, Juan Luis Pérez Rodríguez

Instituto de Investigaciones del Tabaco, UCTB Estación Experimental de Cabaiguán. Carretera hacia Santa Lucía Km 2, Cabaiguán, Sancti Spíritus. *informatico@eetcab.co.cu

La información almacenada sobre las experiencias adquiridas en el desarrollo de investigaciones en el cultivo del tabaco, constituye un valioso medio para la preservación de estos recursos fitogenéticos. Manipular con rapidez este gran cúmulo de información y llegar a conclusiones que faciliten la generación de conocimiento, representa un reto para las instituciones investigativas. Como solución a esta problemática se desarrolló TABANK, Sistema Automatizado para la Gestión de la Información del Banco de Germoplasma de Tabaco en Cuba. Su fundamentación radica en la aplicación de un Sistema de Gestión de Información para el manejo del Banco de Germoplasma, teniendo como objetivo principal incorporar a este proceso, una herramienta capaz de agilizar el trabajo logrando niveles altos de fiabilidad y organización; lo que traerá consigo un ahorro significativo de tiempo, recursos materiales y humanos. La herramienta fue diseñada, desarrollada e implementada en la Estación Experimental de Cabaiguán, perteneciente al Instituto de Investigaciones del Tabaco. La metodología de desarrollo de software empleada fue RUP (Rational Unified Process), utilizando C# como lenguaje de programación, SQL Server como Gestor de Base de Datos y Visual Studio. Net como IDE (Entorno de Desarrollo Integrado) de programación. El software permite almacenar en una base de datos toda la información cualitativa y cuantitativa de las más de 900 accesiones del género *Nicotiana* y tiene incorporadas funcionalidades que facilitan la localización, administración y conservación del recurso genético; además de favorecer el desarrollo de las investigaciones mediante el acceso rápido y exacto a la información.

Palabras clave: automatización, recursos genéticos, tecnologías de la información

T6.5 Implementación de una herramienta computacional para la predicción de enfermedades en *Glycine max* (L). Merrill

Lester René Santos Martínez^{1*}, Leidys Cabrera Hernández², Gladys Casas Cardoso², Gonzalo Nápoles Ruiz², Alejandro Morales Hernández²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *lester@ibp.co.cu

²Facultad de Matemática, Física y Computación. Centro de Estudios Informáticos (CEI). Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

Los sistemas de clasificación constituyen una alternativa computacional para el diagnóstico de enfermedades en general. Las técnicas de clasificación son divididas en dos grupos: los modelos individuales y los sistemas multclasificadores, estos últimos combinan las salidas de un conjunto de clasificadores individuales siguiendo un criterio determinado. La selección de los distintos clasificadores bases para un sistema multclasificador constituye un problema combinatorio de elevado costo computacional, es por ello que se propone el uso de las meta heurísticas para obtener una solución superior a la mejor clasificación individual en cuanto a la exactitud. El diagnóstico de enfermedades no puede hacerse basándose solamente en los síntomas, aunque pueden hacerse algunas generalizaciones. Un diagnóstico preciso solo puede hacerse luego de evaluar la planta afectada por observación directa o cultivar los patógenos en medios de cultivo específicos. La soya [*Glycine max* (L.) Merrill] constituye uno de los cultivos más importantes en el mundo por su alto contenido de proteínas y aceite. En Cuba, representa una alternativa económica importante para la alimentación humana y animal. Sin embargo los rendimientos de este cultivo se han visto afectados principalmente por la incidencia de plagas y enfermedades. En este sentido, sería de gran utilidad para los fitopatólogos contar con un software predictivo que permita el diagnóstico de enfermedades en esta especie con un mayor grado de exactitud. Este trabajo tuvo como objetivo implementar una herramienta computacional para el diagnóstico de enfermedades en *Glycine max* (L.) Merrill. Para ello, se utilizó la librería de WEKA y el software fue desarrollado en Java. Como resultado del trabajo se obtuvo un sistema multclasificador que combinando básicamente un número pequeño de

clasificadores, diagnosticó aproximadamente el 94 % de los casos correctamente.

Palabras clave: diagnóstico, meta heurística, multclasificador, soya

Implementation of a computational tool for predicting disease in *Glycine max* (L.) Merrill

Classification systems are a computational alternative for diagnosing diseases in general. Classification techniques are divided into two groups: the individual models and the multi classifier systems. The last one combine the outputs of a set of individual classifiers according to a certain criterion. The selection of the different basis classifiers for a multi classifier system constitute a combining problem of high computational cost, that is why the use of the meta heuristics to obtain a better solution to the best individual classification in terms of accuracy is proposed. The diagnosis of diseases cannot be done only basing on the symptoms, although some generalizations can be made. An accurate diagnosis can only be done after evaluating the affected plant by direct observation or to cultivate the pathogens in specific culture medium. Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is one of the most important crops in the world because of its high content of protein and oil. In Cuba, it represents an important economic alternative for human and animal consumption. However the performances of this crop have been affected mainly because of the incidence of pests and diseases. In this sense, it would be very useful for pathologists to have a predictive software which allow them to diagnose with higher accuracy diseases in this species. This work had as aim to implement a computational tool for diagnosing diseases in *Glycine max* (L.) Merrill. For this purpose the WEKA library was used and the software was developed in Java. As a result of the work, a multi classifiers system was obtained, which combined basically with a small number of classifiers, diagnosed approximately 94 % of cases correctly.

Keywords: diagnosis, meta heuristic, multi classifier, soybeans

T6.6 Crops in their juvenile phase memorize and limit for life their respirational and carbon-use efficiency, which are basically modulated by a false signal of metabolic oxidative perturbation from exposure to ozone

Edwin Holman

Dessa Consult, Rua Verbenias 124, PO Box 305,
CEP 13825000, Holambra-SP, Brazil.
dessaconsult@dessa.com.br /
www.dessa.com.br, tel: +55-19-3802-5456

Current modeling attempts often tend to apply a threshold value for ozone, underestimate the yield suppressing effect of ground level ozone, overestimate 'the feeding effect' of CO₂ and apply traditional Q10 temperature responses derived from short term (hours) measurements in mature organisms. To elucidate the actual and future yield gap and the dynamics of the land carbon reservoir, an updated vision and consequent approach are put forward as to how temperature, ground level ozone and CO₂ interactively modulate carbon sequestration and yield-outcome. The presented study combines field observations with phytotron tests on ozone modulated epigenetic memory effects and yield. The results show the threshold value of mitochondrial alternative oxidative pathway (AOX) respiration relative to total dark respiration (TDR) during early ontogeny in both C3 and C4 crops to be fixed for life. When crops are exposed to ozone in their early ontogeny, the minimum daily accumulated [AOX/TDR] and consequently TDR become proportionally and permanently up-regulated. The presented study shows (1) the end of a paradigm: extra atmospheric CO₂ doesn't feed crops' yield, but basically acts as ozone 'detox', (2) the CUE paradox: although variable, crops Carbon Use Efficiency tends to be fixed and, as opposed to short term changes, long term temperature change little interferes with CUE but principally affects crop yield by interfering with the crop cycle duration and (3) the CUE paradox explained: crops in their juvenile phase memorize and limit for life their respiratory and carbon use efficiency which is basically modulated by exposure to ozone. It is further concluded that ground level ozone generates a false signal of oxidative metabolic perturbation. No threshold or 'safe value' for ozone exposure applies. Yield is basically modulated by ground level ozone as opposed to atmospheric CO₂. Broadening the scope from crops to earth's vegetation in general and considering the doubled ground level ozone and 40 % atmospheric CO₂ increase since the onset of the industrial revolution, we postulate atmospheric CO₂ to be increasing principally due to the consequences of anthropogenic emissions of ozone precursors on crops and vegetation in

general instead of due to the anthropogenic CO₂ emissions directly. Commissioned by the Dutch ministry of Economy, Agriculture and Innovation (EL&I), this study has been peer reviewed by the Wageningen University and Research Centre (WUR), is integral part of the theme 6 contribution to the INGC project "Responding to Climate Change in Mozambique" and was the opening presentation of the 10th African Crop Science Society Conference held in Maputo, Mozambique.

Keywords: alternative oxidative pathway, respiration, carbon balance, memory, ozone, yield

T6.7 Comportamiento del rendimiento agrícola de variedades comerciales de tabaco negro al sol en diferentes épocas de plantación

Antonio Núñez Mansito*, Guillermo Quintana Vara, Mileidy Cabrera Esmory, Yoan Rodríguez Marrero

UCTB Estación Experimental de Cabaiguán. Carretera Santa Lucía km 2. Cabaiguán, Sancti Spíritus. *director@eetcab.co.cu

El cambio climático es un fenómeno global que ejerce gran influencia en la agricultura. El estudio de sus efectos adversos en el sistema agrario cubano, pudiera contribuir a minimizar sus consecuencias negativas en los resultados productivos. En la producción tabacalera se desconoce la respuesta de las variedades comerciales ante las posibles e inminentes variabilidades del clima. Estos cambios pueden producir corrimientos de las estaciones del año y la producción tabacalera debe estar preparada para enfrentar este reto, conociendo de antemano el comportamiento de las variedades plantadas en épocas no idóneas. Como está establecido se tendrá una posible respuesta al problema que se viene anunciando. Para ello se realizó el presente trabajo que tiene como objetivo: determinar el rendimiento de variedades comerciales de tabaco negro en diferentes épocas de plantación. Se montaron experimentos de seis variedades en cada fecha de cultivo y se determinó el rendimiento en kg ha⁻¹. Los resultados indicaron que la obtención de altos rendimientos en tabaco negro cultivado al sol está fuertemente influenciada por la época de plantación, variedad empleada y condiciones climáticas prevalecientes. En la variedad 'Sancti Spíritus 96' se afectó el rendimiento en 1 067.36 kg ha⁻¹ como promedio de las tres campañas estudiadas (trimestre

marzo-mayo) y en la variedad 'Habana 92' se afectó en 768.75 kg ha⁻¹.

Palabras clave: cambio climático, época de cultivo, suelo pardo, tabaco negro

T6.8 Diseño de la arquitectura de información del sitio web Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal

Maydelis Menéndez Gómez^{1*}, Yurisleidy Silva Gutierrez¹, Maylin Frías Guzmán²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5.5. Santa Clara. Cuba. CP 54 830. *maydelis@ibp.co.cu

²Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Facultad de Matemática-Física- Computación. Carretera a Camajuaní Km 5.5. Santa Clara. Cuba.

El término "Arquitectura de Información" se utiliza para describir los procesos de planificación y organización de la información dentro del ciclo de vida de un producto electrónico. La arquitectura de información en sitios web es la que permite estructurar y organizar los contenidos que se encuentran en una página de manera que el usuario pueda navegar y recuperar la información contenida en el mismo con facilidad. El presente estudio tuvo como objetivo diseñar la arquitectura de información del sitio web del Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal: simposio.ibp.co.cu perteneciente al Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP). En el mismo se abordaron características generales del IBP, así como la descripción de la arquitectura de información que posee la página web perteneciente a dicho instituto. Para ello se utilizó la metodología propuesta por Pérez Montoro. Este estudio permitió determinar las herramientas y técnicas correspondientes para el diseño de la arquitectura de la información del sitio web, minimizándose los errores que presentó el mismo, garantizando así el correcto desarrollo de la página en el diseño e implementación, centrándose en el usuario, en sus perspectivas y necesidades respecto al sitio. Se abordaron aspectos fundamentales para el análisis, diseño e implementación adecuados del sitio web: simposio.ibp.co.cu. La fase de análisis examinó el contexto el cual comprende el análisis de background y el tecnológico. En el análisis de

contenidos se incluyeron aspectos como la evaluación heurística y el mapa de contenido. El análisis de usuarios se realizó a través de los métodos card sorting y la entrevista no estructurada. En la fase de diseño, se evidenció el inventario de contenido, el modelo de contenido, el prototipado, los blueprints y wireframes. Estas técnicas permitieron definir los elementos informacionales que conformarán el nuevo diseño del sitio facilitando la navegación de los usuarios.

Palabras clave: arquitectura de información, Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal, sitio web

Design the information architecture of the website International Symposium on Plant Biotechnology

The term "Information Architecture" is used to describe the planning and organization of information within the life cycle of an electronic product. The architecture of information on websites is what allows us to structure and organize the contents found on a page so that the user can navigate and retrieve the information contained therein easily. This study aimed to design the information architecture of the International Symposium on Plant Biotechnology Web site: simposio.ibp.co.cu from the Institute of Plant Biotechnology (IBP). In the same general characteristics of IBP, and the description of the architecture of information held by the belonging to the institute website they addressed. For this, the methodology proposed by Pérez Montoro was used. This study allowed us to determine the corresponding tools and techniques for designing the information architecture of the website, minimizing errors that presented the same, thereby ensuring the smooth development of the page in design and implementation, focusing on the user, their perspectives and needs regarding the site. Fundamental aspects for the analysis, design and implementation of appropriate simposio.ibp.co.cu Web site were addressed. The analysis phase allowed the analysis of context which includes the analysis of background and technological analysis. In the content analysis aspects such as heuristic evaluation and map content included. The user analysis was performed using card sorting methods and unstructured interview. In the design phase, the inventory of content, the content model, prototyping, blueprints and wireframes was evident. These techniques allowed to define the

informational elements that make up the new site design facilitating user navigation.

Keywords: information architecture, International Symposium on Plant Biotechnology, website

T6.9 Análisis de rentabilidad de proyectos de investigación en el Instituto de Biotecnología de las Plantas

Jorge Machado Jiménez*, Annie Martínez Pérez, Lismary Rodríguez Milián, Geidy Camacho Damas, Annalí Alba Navarro, Leidy Boada Turiño, Carlos Luis Afonso López

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní. km 5.5. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *jorgem@ibp.co.cu

La biotecnología vegetal se desarrolla hoy a pasos agigantados en el mundo, esta ciencia va encaminada a la producción de nuevos productos, minimizando los costos y elevando los rendimientos para vencer las adversidades climáticas en función de garantizar la alimentación, a pesar del deterioro de los recursos naturales. Por ello muchas organizaciones en el mundo se trazan estrategias que conllevan a desarrollar la investigación en esta rama, a través de proyectos a los cuales les dedican parte de su capital. Los proyectos constituyen la célula básica para la organización, ejecución, financiamiento y control de actividades vinculadas con la investigación científica, el desarrollo e innovación tecnológica, la prestación de servicios científico técnico de alto valor agregado, las producciones especializadas y las transferencias de tecnologías, que materializan objetivos y resultados propios o de los programas en que están insertados. Dentro de las actividades relacionadas con los proyectos, el cálculo de los costos constituye un elemento básico y primordial para garantizar su sostenibilidad, financiar los recursos humanos, materiales y de equipamiento necesarios. La presente investigación tuvo como objetivo proponer las vías de solución en cuanto a la organización y rentabilidad de los proyectos de investigación teniendo en cuenta el cálculo de los costos utilizando un sistema de costo por órdenes. Para ello se identifican los centros de costo que participan de forma directa o indirecta en los proyectos, los elementos de gastos que intervienen y su asignación, así como el análisis de factibilidad de los proyectos según su

clasificación hasta la comercialización de sus resultados. La investigación presenta las bases para la asignación y control de los costos a los proyectos de investigación, así como el cálculo de la rentabilidad para evaluar la factibilidad económica que permita un mejor criterio de decisión en la aplicación de los resultados.

Palabras clave: costo, economía, proyecto

Profitability analysis of research projects at the Institute of Plant Biotechnology

Plant biotechnology is developed today by leaps and bounds in the world, this science is aimed at the production of new products, minimizing costs and raising yields to overcome the adverse weather conditions in order to guarantee feeding, despite the deterioration of resources natural. Therefore many organizations in the world to develop strategies that lead to research in this field through projects to which they devote part of their capital are plotted. Projects are the basic unit for the organization, implementation, financing and control of activities related to scientific research, development and technological innovation, providing scientific and technical services of high added value, specialized production and technology transfers, embodying goals and programs themselves or they are inserted results. Among the activities related projects, costing is a basic and essential element to ensure sustainability, finance human, material and equipment necessary resources. The present study aimed to propose ways to solve in terms of organization and profitability of research projects given the costing system using cost orders. For this cost centers involved directly or indirectly in the projects are identified, the elements of costs involved and their allocation, as well as the feasibility analysis of the projects according to their classification to the commercialization of its results. The research presents the basis for the allocation and control of costs on research projects as well as the calculation of profitability to evaluate the economic feasibility to enable better decision criterion in the application of the results.

Keywords: cost, economy, project

T6.10 Evaluación de la percepción pública de los organismos genéticamente modificados a través del software MultiTransG

Lisvandy Amador Penichet^{1*}, Idalmis Bermúdez Caraballoso¹, Neysi Parada Gamboa²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *lisvandy@ibp.co.cu

²Facultad de Matemática, Física y Computación. Departamento de Matemática. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

La producción de plantas transgénicas es un tema polémico a nivel mundial debido en gran parte a que los defensores y detractores se encargan de magnificar sus beneficios y riesgos respectivamente. Esta contradicción existente ha provocado de alguna manera la desinformación de la población, lo que trae consigo en muchos casos el manejo de información errónea por las personas que no conocen a plenitud el tema. Por lo antes expuesto se hace necesario llevar a cabo un trabajo de divulgación científica para que el público comprenda y analice esos procesos, de tal forma que pueda tomar sus propias decisiones y participe en el debate sobre el tema. Existen escasas publicaciones sobre el conocimiento y las opiniones del pueblo cubano respecto a la transgénesis vegetal y por tanto es de suma importancia conocer qué piensa la población del país sobre esta tecnología y cuál es su percepción. El presente trabajo se realizó con el objetivo de diseñar una multimedia para ayudar a las personas no expertas en el tema a conocer más sobre los organismos genéticamente modificados (OGM) permitiéndoles entender tanto riesgos como beneficios. La multimedia fue elaborada en el software AutoPlay Media Studio versión 8.3. La misma incluye un cuestionario que brinda la facilidad a los usuarios, de evaluar la percepción pública de los OGM. La encuesta fue aplicada a usuarios de diferentes niveles educacionales, antes y después de revisar el contenido de la multimedia. Se demostró que el uso de esta herramienta elevó el conocimiento sobre las plantas transgénicas de las personas que la utilizaron.

Palabras clave: encuesta, multimedia, plantas transgénicas

Evaluation of the public perception of genetically modified organisms using the MultiTransG software

The production of transgenic plants is a worldwide polemic population theme due to the fact that it's promoters and critics are responsible for magnifying his benefits and risks respectively. This existent contradiction has somehow provoked the population's misinformation, which causes discussions of misinformation by the people that do not know the plenitude of the theme. As the result of what was mentioned above it is necessary to carry out a scientific dissemination project for the public to understand and analyze these processes, so they can make their own decisions and participate in debates on the issue. There are few publications on the knowledge and opinions of the Cuban people regarding the transgenic plants and is therefore extremely important to know what the population thinks about this technology and what is their perception. This work was done with the objective of designing a multimedia to help non-experts in the field to learn more about genetically modified organisms (GMOs) enabling them to understand both risks and benefits. The media was developed in the AutoPlay Media Studio version 8.3 software. It includes a questionnaire that provides the resource to users to evaluate public perception of GMOs. The survey was applied to users of different educational levels before and after reviewing the contents of the media. It was shown that the use of this tool increased knowledge of the transgenic plants of people who used then.

Keywords: media, transgenic plants, survey

T6.11 Medidas de conservación y mejoramiento de los suelos en áreas tabacaleras de la Empresa ABT Sancti Spíritus; para un uso sostenible de los mismos

Ismaray Gatos Martínez*, Glenia Lalcebo Giménez, Maria del Carmen Valiente

UCTB- Estación Experimental de Cabaiguán. Carretera de Santa Lucía, Km 2, Cabaiguán, Sancti Spíritus. Teléfonos: (0141) 662 500 / 662 420. *suelo@eetcab.co.cu

En la actualidad la producción de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), representa uno de los renglones más importante de la economía de muchos países del mundo. En áreas de la empresa ABT 'Sancti Spíritus' los productores han venido observando un descenso en los rendimientos de sus cultivos, incluidos en estos el

tabaco y entre los muchos factores que influyen en estos problemas se encuentra el gran deterioro que presentan los suelos. Teniendo en cuenta todos estos problemas el presente trabajo tuvo como objetivo elaborar una propuesta de medidas de conservación y mejoramiento de los suelos, teniendo en cuenta la caracterización de los mismos, en la región central del país. El trabajo se realizó en las campañas 2011-2012 y 2012-2013, se muestrearon 23 productores de la empresa ABT 'Sancti Spíritus', divididos entre las UEB de Taguasco, Cabaiguán, Fomento y en el polígono de conservación y mejoramiento de los suelos ubicado en la CPA Roberto Carvajal perteneciente a la Empresa Agropecuaria Florencia. Obteniendo como resultado que todas las áreas muestreadas presentaron problemas con la materia orgánica, en cuanto al pH (KCl), la que mayores problemas presentó fue la UEB de Cabaiguán y a excepción del polígono de la Empresa Agropecuaria Florencia, todas las demás áreas presentan problemas con los altos contenidos de P_2O_5 y el K_2O asimilable.

Palabras clave: conservación, mejoramiento, productores, suelo, tabaco

T6.12 Elaboración del presupuesto de gasto para las plantas *in vitro* de plátano regeneradas por embriogénesis somática en el Instituto de Biotecnología de las Plantas

Patricia Díaz Caballero^{1*}, Geidy Camacho Damas², Annie Martínez², Marili Martín García³

¹Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. *patriciadc@uclv.edu.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

³Dirección de Economía, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km.5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

La embriogénesis somática ha surgido como una nueva vía de propagación masiva de plantas. Esta técnica permite incrementar los coeficientes de multiplicación y disminuir los costos de producción. Con el desarrollo de investigaciones

mediante la aplicación de técnicas biotecnológicas en el cultivo del plátano y bananos se ha logrado una metodología de regeneración de plantas vía embriogénesis somática con una alta eficiencia y calidad. A partir de la actualización del nuevo modelo económico de nuestro país y la necesidad de perfeccionar el cálculo del costo de las producciones en el Instituto de Biotecnología de las Plantas desde una correcta fundamentación de los gastos, se hace necesario la utilización de los presupuestos ya que permiten controlar y analizar más racionalmente el uso de los recursos materiales, laborales y financieros existentes en las condiciones previstas en el plan. Por lo que se declara como objetivo general de la investigación perfeccionar la ficha de costo de las plantas *in vitro* de plátano obtenidas vía embriogénesis somática, para la elaboración del presupuesto de gasto. Ofreciendo a la entidad una herramienta de análisis y control a través del cálculo predeterminado del costo y la confección de presupuestos de gastos.

Palabras clave: costos, embriogénesis somática, plátano

Development of budget spending for the *in vitro* plants of plantain via somatic embryogenesis at the Instituto de Biotecnología de las Plantas

The somatic embryogenesis has arisen as a new mass propagation. This technique allows to increase the multiplication coefficients and to diminish the production costs. With the development of investigations by somatic embryogenesis in bananas and plantains were obtain a methodology to obtain plants with high quality and efficiency. Starting from the upgrade of the new economic model of our country and the necessity of perfecting the calculation of the cost of the productions in the IBP from a correct foundation of the expenses, it becomes necessary the use of the budgets since allows to control and to analyze the use of the existent material, labor and financial resources more rationally under the conditions foreseen in the plan. For what is declared as general objective of the investigation to perfect the record of cost of the *in vitro* plants of banana obtained by somatic embryogenesis, for the elaboration of the expense budget. Offering to the entity an analysis tool and control through the predetermined calculation of the cost and the making of budgets of expenses.

Keywords: costs, plantains, somatic embryogenesis

T6.13 Tecnología de manejo con *Canavalia ensiformis* inoculada con HMA y la reducción del fertilizante mineral en el tabaco negro cultivado al sol

Milagros García Rubido^{1*}, Ramón Rivera Espinosa², Yoanna Cruz Hernández¹, Yenssy Acosta Aguiar¹, Leonel Martínez Acosta¹

¹UCTB. Estación Experimental del Tabaco (E.E.T.), Finca Vivero, San Juan y Martínez, Pinar del Río, Cuba. *investigacion6@eetsj.co.cu

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Mayabeque, La Habana, Cuba.

El uso de especies de abonos verdes como fuentes alternativas de incorporar nutrientes y el empleo de biofertilizantes a base de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) para mejorar la eficiencia en la absorción de agua y nutrientes por los cultivos, son opciones, que permiten incrementar la producción agrícola de forma ecológica y sustituye en gran medida la utilización de los fertilizantes nitrogenados. El objetivo del trabajo fue reducir la dosis de fertilización mineral en tabaco con el empleo de *Canavalia ensiformis* inoculada con micorizas, para ello se realizó un diseño en bloques al azar, con siete tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos principales fueron: Barbecho (control); Canavalia y Canavalia más HMA y tabaco cultivar 'Criollo 98'. Donde se sembró Canavalia en ambas formas en alternancia con tabaco se evaluaron 3 dosis de fertilizante mineral (50 %; 75 %; 100 %). Los resultados demuestran que los mayores aportes de masa seca y nutrientes NPK, se alcanzaron en los tratamientos con la aplicación de canavalia inoculada con HMA y el 75 % y 100 % de la fertilización mineral, con incrementos en la multiplicación de propágulos nativos de HMA en el suelo y la colonización radical. El tabaco cuando se alternó con Canavalia y el 75 % y 100 % de la fertilización mineral presentó los mayores rendimientos totales y cuando esta se combina con HMA se obtuvieron los mayores rendimientos en las variables morfológicas y en clases superiores. Con la utilización de la canavalia micorrizada se logra reducir un 25 % de la fertilización mineral en el cultivo del tabaco

alcanzando resultados superiores e iguales al aplicar el 100 % de la fertilización mineral.

Palabras clave: Abono verde, cultivo, fertilización mineral

T6.14 Aplicación de inoculantes microbianos en el cultivo del tabaco negro bajo tela

Yenssi Acosta Aguiar^{1*}, Yarilis León González¹, Bernardo Dibut Álvarez², Yoanna Cruz Hernández¹, Betty Hernández García¹

¹Estación Experimental del Tabaco. San Juan y Martínez, Pinar del Río. Cuba. *investigacion7@eetsj.co.cu

²Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Cuba.

La investigación se realizó en las campañas tabacaleras 2013/2014 y 2014/2015 en la Estación Experimental del Tabaco de San Juan y Martínez, Pinar del Río. El objetivo fue determinar la influencia de la aplicación de dos inoculantes microbianos en el cultivo del tabaco negro bajo tela. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones y 11 tratamientos que se formaron a partir de la combinación de diferentes dosis de fertilizante mineral (100 % y 75 % del total a emplear) en combinación con las bacterias *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum*. La inoculación se realizó en el momento de la siembra del semillero a una dosis de 2 l ha⁻¹. Los resultados mostraron que con la utilización de los inoculantes microbianos y el 100 % de la dosis de fertilizante mineral se mejoran las características morfofisiológicas de las plantas y aumenta el rendimiento del cultivo del tabaco negro bajo tela.

Palabras clave: *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium*, tabaco

T6.15 Agricultura sostenible para la producción de tabaco en suelos de Pinar del Río

Yarilis León González*, Yenssi Acosta Aguiar, Betty Hernández García, Eduardo Cabrera Carcedo

Estación Experimental del Tabaco. San Juan y Martínez, Pinar del Río. Cuba.
*investigacion1@eetsj.co.cu

Existe la necesidad de introducir en el mercado un producto (tabaco) más limpio, menos dañino para la salud humana y para el ambiente, por lo que se propone como aspectos principales integrar varias tecnologías capaces de producir un tabaco de forma sostenible. Para ello se utilizó el 75 % del fertilizante mineral y abono orgánico como complemento, se realizó labranza de conservación y la incorporación cada año de abonos verdes. Se utilizaron productos biológicos para el control de plagas, los que posibilitaron la reducción de plaguicidas químicos. Con la incorporación de abonos verdes y la fertilización orgánica se redujo el 25 % del fertilizante mineral en el cultivo del tabaco. La tecnología tuvo un efecto positivo en las características morfológicas del tabaco, en el rendimiento y la calidad de la producción. Además es rentable, económicamente factible y no presenta diferencia en ninguno de los atributos evaluados de aroma, sabor, fortaleza, combustibilidad y calidad general con la tecnología tradicional. La utilización de esta tecnología, permitió asegurar las condiciones de suelo favorables para el crecimiento de las plantas, a través del manejo de la materia orgánica y la estimulación de la vida edáfica, optimizar la disponibilidad y el equilibrio de los nutrientes, particularmente por el aporte y reciclaje de los mismos. Se obtuvo tabaco con el mínimo empleo de productos químicos, utilización de abonos verdes, bioplaguicidas, mejoradores de suelo orgánicos, y labranza de conservación que además de proteger el ambiente y facilitar el equilibrio ecológico natural, mejoró la calidad del producto final.

Palabras clave: abono orgánico, bioplaguicidas, tabaco

T6.16 Efecto del impacto ambiental en cultivares de tabaco negro

Emis C. Mena*, Nancy Santana, Miguel Díaz, Vivian Rivero

Instituto de Investigaciones del Tabaco. Estación Experimental del Tabaco. Finca Vivero. Km 22½ Carretera Panamericana. San Juan y Martínez. Pinar del Río. Cuba. CP 2 300.
*investigacion2@eetsj.co.cu

Los efectos del cambio climático generalmente son más evidentes cuando ocurren eventos extremos, como es el caso de la sequía, los ciclones tropicales, las lluvias intensas, entre otros. Muchas veces ocasionan desastres naturales, que en la agricultura se expresan directamente en pérdidas en los cultivos, animales, suelos, instalaciones, entre otros componentes de la producción agropecuaria. El rendimiento agrícola y la calidad en el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) están influenciados notablemente por las condiciones meteorológicas en el período vegetativo, que en Cuba prácticamente coincide con el período poco lluvioso. En la Estación Experimental del Tabaco de San Juan y Martínez se realizó una investigación con el objetivo de estudiar el efecto del impacto ambiental en el comportamiento de cinco cultivares comerciales de tabaco negro bajo tela, en época no óptima para el cultivo. La plantación se realizó a partir del 20 de febrero y los cultivares utilizados fueron: 'Criollo 98', 'Corojo 99', 'Corojo 2006', 'Criollo 2010' y 'Habana 92'. Las variaciones climáticas en la temperatura, humedad relativa y precipitaciones influyeron negativamente en el desarrollo y crecimiento de los cultivares de tabaco, así como favorecieron el aumento de la proliferación de plagas que atacan al cultivo. El cultivar 'Corojo 2006' presentó el mejor comportamiento en la época no óptima para el cultivo en cuanto a su desarrollo morfológico y presentó el mayor nivel de resistencia ante las enfermedades. El cultivar 'Criollo 2010' produjo el mayor valor en clases exportables y el 'Corojo 2006' el mayor rendimiento total en estas condiciones.

Palabras clave: clima, cultivares, rendimientos, tabaco

Effect of the environmental impact in the cultivars of the black tobacco

The effects of the climatic change are generally more evident when they happen extreme events, like it is the case of the drought, the tropical hurricanes, the intense rains, among others. Many times they cause natural disasters that are expressed directly in losses in the cultivations in the agriculture, animals, floors, facilities, among other components of the agricultural production. The agricultural yield and the quality in the cultivation of the tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) they are influenced notably by the meteorological conditions in the vegetative period that in Cuba practically coincides with the not very rainy period.

In the Experimental Station of San Juan's Tobacco and Martínez was carried out an investigation with the objective of studying the effect of the environmental impact in the behavior of five commercial cultivars of tobacco black low cloth, in non good time for the cultivation. The plantation was carried out starting from February 20 and the used cultivars they were: 'Criollo 98', 'Corojo 99', 'Corojo 2006', 'Criollo 2010' and 'Havana 92'. The climatic variations in the temperature, relative humidity and precipitations influenced negatively in the development and growth of the cultivars of tobacco, as well as they favored the increase of the proliferation of plagues that you/they attack to the cultivation. Cultivating 'Corojo 2006' presented the best behavior in the non good time for the cultivation as for their morphological development and it presented the biggest resistance level before the illnesses cultivating 'Criollo 2010' it produced the biggest value in exportable classes and the 'Corojo 2006' the biggest total yield under these conditions.

Keywords: climate, tobacco, varieties, yield

T6.17 Comportamiento agroproductivo de seis cultivares de tabaco virginia en la empresa agropecuaria Sandino

Miguel Díaz*, Emis C. Mena

Instituto de Investigaciones del Tabaco. Estación Experimental del Tabaco. Finca Vivero. Km 22 ½ Carretera Panamericana. San Juan y Martínez. Pinar del Río. Cuba. CP 2 300.
*investigacion3@eetsj.co.cu

La actividad del mejoramiento del tabaco en Cuba ha estado dirigida desde sus inicios, a la búsqueda de nuevos cultivares mejor adaptados a las condiciones de cultivo del país y a que a la vez posean la calidad organoléptica que ha dado fama mundial al tabaco cubano. Las investigaciones (Obtención e Introducción) se realizaron por parte de la Estación Experimental de Tabaco de San Juan y Martínez, Pinar del Río y la evaluación de los cultivares en la producción se ejecutó en la Empresa Agropecuaria Sandino. Para ello se utilizaron dos cultivares introducidos: la 'Speight G-28' y 'K 326' y cuatro cultivares obtenidas en nuestro país: 'San Luís 20', 'San Luís 40', 'San Luís 21', y 'San Luís 22'. Se evaluó el comportamiento de los cultivares ante las principales enfermedades que atacan al cultivo, se caracterizaron morfológicamente y se valoró su influencia en el aumento de los rendimientos y la

calidad del tabaco. El cultivar 'Virg San Luís 22' presentó el mejor comportamiento agro productivo en la Empresa Agropecuaria Sandino y produjo el mayor valor de la producción, 89 856.00 \$ ha⁻¹, con una ganancia de 31 600.00 \$ ha⁻¹. Con la obtención e introducción de los nuevos cultivares de tabaco virginia se ha logrado el aumento de los rendimientos y calidad del tabaco virginia en la Empresa Agropecuaria Sandino.

Palabras clave: cultivares, enfermedades, mejoramiento, tabaco

Productive behaviour in field conditions of Virginia tobacco cultivars obtained in Cuba

In Cuba the activity of the tobacco genetic breeding has been directed from its beginnings, to the search of new better cultivares adapted to the conditions of the country and to that at the same time possess the quality organoléptica that that it demands the market. The obtaining and Introduction investigations, of the Experimental Station of Tobacco of San Juan and Martínez, Pinar the Río, were carried out and the evaluation in the production it was executed in the Agricultural Company Sandino. For the investigation they were used: the 'Speight G-28', 'K 326', 'San Luis 20', 'San Luis 40', 'San Luis 21', and 'San Luis 22'. The behavior of the cultivares was evaluated before the main illnesses that attack to the cultivation, they were characterized morphologically and its influence was valued in the increase of the yields and the quality of the tobacco. The cultivar 'Virg San Luís 22' it presented the best behavior productive agriculture in the Agricultural Company Sandino and it produced the biggest value in the production, 89 856.00 \$ ha⁻¹, with a gain of 31 600.00 \$ ha⁻¹. With the obtaining and introduction of the new cultivares resistant its was achieved the increase of the yields and quality in the Agricultural Company Sandino.

Keywords: breeding, diseases, resistant, tobacco