

Respuesta del ñame espino (*Dioscorea rotundata* Poir.) a la inoculación de *Bacillus licheniformis* y sombreadamiento

Response of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) to *Bacillus licheniformis* inoculation and shading

Lily Lorena Luna Castellanos¹ y Diana Beatriz Sánchez López^{2*}

Abstract

The white yam crops make a substantial contribution to sustaining the food security of millions of people worldwide. However, obtaining good quality planting material is a major challenge. Multiplication rates are low, with expensive seeds and prone to contamination by pests and pathogens in traditional production systems. In addition, the intensive use of natural resources has caused impacts on biodiversity, quality of natural resources and global warming, which forces farmers to mitigate and adapt to these conditions. In this sense, the present study evaluated the response of apical cuttings of white yam to different levels of shading (0 %, 65 % and 80 %) and to the inoculation of the rhizobacterium *Bacillus licheniformis*-DSC1 at doses of 2 and 6 mL. A randomized complete block design with factorial arrangement and three replications was used to set up the experiment. The results demonstrated the capacity of the rhizobacterium *B. licheniformis*-DSC1 to increase the survival of the cuttings by 42 % with respect to the non-inoculated cuttings. It was also shown that the combined use of 65 % shade and a dose of 2 mL of rhizobacteria increased the percentage of tuberization of the cuttings by 33.33 %. The use of cuttings and microbial inoculants for seed tubers is a promising and sustainable strategy to be implemented on a large scale.

Keywords: Plant growth, rhizobacteria, nutrition, tubercle, hormone.

Resumen

El cultivo de ñame espino contribuye de forma sustancial al sostenimiento de la seguridad alimentaria de millones de personas en el mundo. Sin embargo, obtener material de siembra de buena calidad es un gran desafío. Las tasas de multiplicación son bajas, con semillas costosas y propensas a contaminarse con plagas y patógenos en los sistemas tradicionales de producción. Adicionalmente, el uso intensivo de los recursos naturales ha ocasionado impactos sobre la biodiversidad, calidad de los recursos naturales y el calentamiento global, lo cual obliga a los agricultores a mitigar y adaptarse a estas condiciones. En este sentido, en el presente estudio se evaluó la respuesta de esquejes apicales de ñame espino a diferentes niveles de sombreadamiento (0 %, 65 % y 80 %) y a la inoculación de la rizobacteria *Bacillus licheniformis*-DSC1 en dosis de 2 y 6 mL. Para el montaje del experimento se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial y tres repeticiones. Los resultados demostraron la capacidad de la rizobacteria *B. licheniformis*-DSC1 para incrementar la sobrevivencia de los esquejes en un 42 % respecto a los esquejes no inoculados, asimismo, se evidenció que el uso combinado de sombra al 65 % y una dosis de 2 mL de rizobacteria incrementó el porcentaje de tuberización de los esquejes en un 33.33 %. El uso de esquejes e inoculantes microbianos para la obtención de tubérculos semilla constituye una estrategia prometedora y sostenible para implementarse a gran escala.

Palabras clave: Crecimiento de las plantas, rizobacteria, nutrición, tubérculo, hormona.

Recibido: 14/12/2021

Aceptado: 10/04/2022

Publicado: 16/05/2022

Sección: Artículo original

*Autor correspondiente: dbsanchez@agrosavia.co

Introducción

El tubérculo de ñame (*Dioscorea* sp.) constituye un componente vital del sector agrícola en las zonas tropicales y subtropicales en el mundo. De las 600 especies de ñame cultivadas, la especie *Dioscorea rotundata* (ñame espino) es la de mayor importancia en términos de superficie cultivada, volumen y valor de producción (Asfaw *et al.*, 2021). Sin embargo, este sistema de cultivo enfrenta grandes limitaciones agronómicas, que reducen significativamente su eficiencia económica. Lo anterior se puede atribuir a varios factores como falta del material de siembra de calidad, adaptabilidad a condiciones de estrés y susceptibilidad de los genotipos, a plagas y enfermedades (Okongor *et al.*, 2021).

Los tubérculos de ñame tienen dos tipos de uso: consumo directo y material de plantación; considerándose como principal método de propagación vegetativa tubérculos enteros o porciones (Brice *et al.*, 2019). Sin embargo, con este método, los tubérculos se multiplican

¹Corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA). Centro de investigación Turipaná. km 13 vía Montería-Cereté, Colombia. Teléfono +57(1) 4227300 Ext. 2253. Cereté, Córdoba, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2172-7842>

²Corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA). Centro de investigación Turipaná. km 13 vía Montería-Cereté, Colombia. Teléfono +57(1) 4227300 Ext. 2253. Cereté, Córdoba, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9715-4097>

Como citar: Luna Castellanos, L. L. y Sánchez López, D. B. (2022). Respuesta del ñame espino (*Dioscorea rotundata* Poir.) a la inoculación de *Bacillus licheniformis* y sombreadamiento. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(2), 111-121. DOI: <https://doi.org/10.18271/ria.2022.385>



lentamente con una relación de multiplicación de 1:3 en un período de 8 a 9 meses después de plantados. Esta situación fomenta la competencia en el mercado entre tubérculos comestibles y de semilla en los sistemas tradicionales de producción, en donde, el 25 y 50 % de la cosecha de ñame se convierte nuevamente en semilla (Dibi *et al.*, 2016). El material de plantación no solo es escaso, también es costoso y puede representar hasta el 30 % del costo total de producción (Martínez-Reina *et al.*, 2021). Todas estas circunstancias crean una situación de oferta de semilla insuficiente, de buena calidad genética y sanitaria, lo que limita la expansión del cultivo de ñame y la necesidad de buscar métodos de propagación alternativos que aporten a abastecer la demanda de material de plantación.

Los esquejes apicales de ñame para obtención de semilla son una alternativa prometedora y garantiza la disponibilidad de material de plantación durante todo el año (Claudius-Cole *et al.*, 2020). Esta técnica ha sido probada con cierto éxito en *D. alata* y *D. rotundata* con registros de supervivencia del 30 al 40 % y tasa de multiplicación para esquejes de 20 cm de largo con 1-3 nudos de 1:30 con respecto a la tasa de multiplicación del sistema tradicional 3:1 (Agele *et al.*, 2010). Esta tasa de multiplicación del ñame mediante esquejes ha sido aumentada a 1:300 empleando técnicas modernas en las que combinan producción de plántulas mediante sistema de biorreactor de inmersión temporal y sistemas aeropónicos (Balogun *et al.*, 2014; Maroya *et al.*, 2014). A partir de esquejes se obtiene una producción promedio por planta de 0.5 a 2 mini tubérculos de respectivamente (Wickham, 2019).

Sin embargo, la tasa de supervivencia, el enraizamiento y la producción de mini tubérculos siguen siendo generalmente bajos e inestables para ñame espino, la especie con mayor demanda en el mundo. Por lo siguiente, una alternativa técnicamente viable para resolver estos problemas es el uso de inoculantes a base de rizobacterias; estos microorganismos tienen la capacidad de colonizar los sistemas radiculares, producir fitohormonas vegetales, solubilizar fosfatos inorgánicos, fijar nitrógeno atmosférico, producir metabolitos secundarios e inducir tolerancia frente a condiciones de estrés biótico y abiótico (Chauhan *et al.*, 2021). La inoculación de rizobacterias nativas en plantas *in vitro* ha mostrado efectos positivos en el crecimiento (Sánchez-López y Pérez-Pazos, 2018), asimismo, bajo condiciones de campo y semillas provenientes de segmentos de tubérculo, las rizobacterias lograron estimular la producción de tubérculos tipo exportación, generando beneficios económicos y ambientales (Sánchez *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2021). Por lo tanto, nuestra hipótesis sugiere que la inoculación de rizobacterias efectuará una respuesta favorable en los esquejes apicales de ñame.

En la región Caribe de Colombia, la producción de ñame espino se desarrolla en zonas de alta y baja montaña,

principalmente en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre. El esquema de producción de material de siembra se desarrolla de forma intensiva, con prácticas agrícolas como la quema que conducen a la degradación de los suelos, erosión edáfica y remoción de material vegetal que han desmejorado las condiciones del suelo y por ende contribuido a la insostenibilidad ambiental y disminución de la biodiversidad en el ecosistema (Tamara *et al.*, 2021). Por tanto, la inclusión de prácticas sustentables dentro del paquete agronómico del cultivo, como lo es, el uso de rizobacterias, representa una contribución al desarrollo sostenible del cultivo y la región (Escobar-Mamani *et al.*, 2020). Por lo cual, la producción de ñame deberá realizarse bajo un enfoque transdisciplinario en el cual, se incluya aspectos socioculturales y ambientales que permitan comprender el impacto del uso de inoculantes en la mejora de las condiciones productivas de los agroecosistemas de ñame en las zonas de alta y baja montaña (Haller y Branca, 2020).

El ñame es una planta originaria de zonas boscosas, en donde la regulación de la intensidad lumínica contribuye a regular de manera eficiente los procesos de llenado de tubérculo y crecimiento de las plantas (Sugihara *et al.*, 2020), por tanto, se deben emplear niveles adecuados de sombra que permitan optimizar la tuberización durante los procesos de multiplicación. En este sentido, en este estudio se evaluó la respuesta del ñame espino a la inoculación de la rizobacteria *Bacillus licheniformis*-DSC1 bajo diferentes niveles de sombreado y dosis de inóculo, con el fin de mejorar la sobrevivencia, crecimiento y tuberización de esquejes apicales.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El estudio se realizó bajo condiciones de casa de malla en el Centro de Investigación Turipaná (C.I.) de la Corporación Colombiana de investigación Agropecuaria-AGROSAVIA, ubicado en el km 13 en el municipio de Cereté (Córdoba, Colombia) a una altitud de 13 metros sobre el nivel del mar. Las coordenadas geográficas son 8°50'79" N y 75°47'58" W. La zona de estudio presenta características agroecológicas acordes a un bosque seco tropical (Bs-T), con una temperatura media anual de 27.4 °C, humedad relativa del 84 %, precipitación media anual de 1346.1 mm y brillo solar anual de 2108.2 horas (Palencia *et al.*, 2006).

Material vegetal

El material vegetal utilizado en este estudio fue la accesión 0307-49SB de la especie *D. rotundata* del banco de germoplasma de ñame de AGROSAVIA, las cuales fueron propagadas mediante el protocolo (código: GA-O-

13) y aclimatadas en casa de malla para la obtención de plantas madres (Figura 1a). A partir en la sexta semana de crecimiento se obtuvieron esquejes apicales con 2 a 3 nudos y una longitud de 7 a 10 cm de largo, los cuales fueron despojados de sus hojas para reducir la transpiración y una de sus hojas de la parte superior se dejó en su lugar para permitir la respiración, así como la actividad fotosintética (Figura 1b). Seguidamente, fueron sembrados en bandejas plásticas, las cuales, contenían 85 % de aluvi6n, 10 % de

arena y 5 % de materia orgánica (Figura 1c). Este sustrato presentó las siguientes características físico-químicas: textura arenosa franco, pH 6.61, conductividad eléctrica 0.22 dS m⁻¹, capacidad de intercambio catiónico 6.48 cmol (+) k⁻¹, materia orgánica 0.49 g 100 g⁻¹, f6sforo disponible 4.05 mg kg⁻¹, potasio <0.09 cmol (+) kg⁻¹. El sustrato para la siembra de los esquejes fue desinfectado con el producto West Terrasafe® (5.0 mL L⁻¹).



Figura 1. a. Aclimatación de plantas madre de ñame espino. b. Esquejes apicales de ñame espino. c. Siembra de esquejes apicales en bandejas plásticas. Fuente: elaboración propia.

Inoculante microbiano

La rizobacteria empleada en este estudio *B. licheniformis*-DSC1 es nativa de la rizosfera de los cultivos de ñame en la región Caribe de Colombia y fue seleccionada de las colecciones del banco de trabajo del Laboratorio de Microbiología Agrícola del C.I Turipaná-AGROSAVIA, dada su alta capacidad para estimular el crecimiento de plantas *in vitro* de ñame y producir fitohormonas bajo condiciones de laboratorio en los ensayos realizados por Sánchez-López y Pérez-Pazos (2018). El inoculante de esta rizobacteria fue producido durante 15 horas en un agitador orbital (Labnet Orbit™ 1900, USA) a 150 rpm, a partir de cultivos puros y en caldos líquidos con fuentes agroindustriales optimizadas para su multiplicación (Luna-Castellanos y Sánchez-López, 2022). Siendo aplicado este inoculante a las plantas con una población bacteriana correspondiente a 10⁸ UFC mL⁻¹.

Establecimiento y manejo del experimento

En este estudio se evaluó el efecto de los factores: niveles de sombreadamiento (0 %, 65 % y 80 %) y dosis de inoculación (2 y 6 mL). La combinación de los factores fue dispuesta en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, con nueve tratamientos y tres repeticiones cada uno. Cada tratamiento fue evaluado sobre una población de 24 esquejes apicales dispuestos en una bandeja plástica. Los tratamientos evaluados se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción de tratamientos.

Tratamientos
T1: Sin inoculación y 0 % de sombra
T2: Sin inoculación y 65 % de sombra
T3: Sin inoculación y 80 % de sombra
T4: 2 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 0 % de sombra
T5: 2 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 65 % de sombra
T6: 2 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 80 % de sombra
T7: 6 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 0 % de sombra
T8: 6 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 65 % de sombra
T9: 6 mL de <i>B. licheniformis</i> -DSC1 y 80 % de sombra

Fuente: elaboración propia.

El factor sombra fue empleado como una estrategia para facilitar la aclimatación de los esquejes de ñame. Durante el periodo experimental se utilizó polisombra al 65 %, con la cual se registró una radiación de 1100 umol ms⁻¹, temperatura media de 29 °C y humedad relativa del 77 %. Además, con polisombra al 80 %, la temperatura media fue de 30.06 °C, humedad relativa promedio del 80.66 % y radiación de 790 umol ms⁻¹. Sin el uso de polisombra (0 %), la entrada de luz registrada fue de 1660 umol m/s, temperatura media de 31.46 °C y humedad relativa del 78.66 %. La radiación (Photosynthetically Active Radiation, siglas en inglés-PAR) fue determinada con un Ceptómetro AccuPAR LP-80® (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

La inoculación microbiana de los esquejes apicales se realizó dos días después de la siembra (DDS)

y transcurridos 45, 95 y 130 DDS, el inoculante fue dispuesto con una jeringa en las dosis indicadas al pie de cada planta. La fertilización química se realizó de forma conjunta con estas tres últimas aplicaciones del inóculo bacteriano. Se empleó el fertilizante comercial Triple 15® en dosis total de 10 g planta⁻¹ y su aplicación se realizó de forma fraccionada: 20 % en la primera aplicación, 30 % en la segunda dosificación y el 50 % restante en la última aplicación. La dosis del fertilizante fue calculada según los requerimientos del cultivo y análisis de las propiedades químicas del sustrato. Los esquejes fueron regados de forma manual con una frecuencia diaria. El manejo agronómico de los esquejes consistió en el control manual de malezas y monitoreo de insectos. Se realizaron aplicaciones de forma preventiva de los fungicidas Azoxistrobina+Difeconazole (2.0 mL L⁻¹), Mancozeb+Oxicloruro de cobre (2.0 g L⁻¹) y Metalaxil-M+Mancozeb (2.0 g L⁻¹) con una frecuencia quincenal. Cada molécula fúngica fue aplicada de forma independiente.

Recopilación de datos

Las mediciones se realizaron a partir del día 20 después de la siembra de los esquejes. En cada unidad experimental se registró la sobrevivencia de los esquejes. A partir de los 90 a los 210 DDS, se realizaron muestreos destructivos con una frecuencia mensual. En cada fecha de muestreo (90, 120, 150, 180 y 210 DDS) fueron seleccionadas al azar tres plantas/tratamiento, se registró peso fresco de la parte aérea, radicular y número de mini tubérculos planta⁻¹. El peso seco de los órganos vegetativos se obtuvo después de 48 horas de secado en estufa (Memmert, UN30, Alemania) a temperatura de 70 °C ± 2 °C. Los datos de peso fueron obtenidos con una balanza (OHAUS CORPORATION, V11P6, USA). Con base en los datos de peso fresco y seco, se calcularon los siguientes índices fisiológicos:

Materia seca (MS%): se determinó con base en el peso fresco y seco de la planta (Valerga *et al.*, 2019), utilizando la fórmula de la ecuación 1:

$$MS\% = \frac{PFP}{PSP} * 100 \quad (1)$$

Dónde: PFP: peso fresco de la planta; PSP: peso seco de la planta.

Contenido relativo de agua (CRA%): se calculó mediante la ecuación 2 propuesta por Gil *et al.* (2014).

$$CRA\% = \frac{PF - PS}{Pf} * 100 \quad (2)$$

Dónde: PF: peso fresco de la planta, PS: peso seco total de la planta.

Tasa de crecimiento absoluta (TAC): la determinación se realizó con base en la ecuación 3 (Aguilar-Carpio *et al.*, 2018).

$$TAC = \frac{(W2 - W1)}{(t2 - t1)} \quad (3)$$

Dónde: W2 (peso seco final) y W1 (peso seco inicial): peso seco de la planta, t2 (tiempo final) -t1 (tiempo inicial): días transcurridos entre muestreos sucesivos; sus unidades corresponden a g día⁻¹.

Tasa de crecimiento relativo (TCR): indica la ganancia en biomasa con respecto al tiempo (Aguilar-Carpio *et al.*, 2018). Se estimó con la ecuación 4:

$$TRC = LnW2 - \frac{LnW1}{t2} - t1 \quad (4)$$

Dónde: Ln W2 y Ln W1: logaritmo natural de la cantidad de biomasa seca final e inicial, de la planta completa u otros órganos individuales en un intervalo de tiempo. t2 y t1: momento final e inicial de tal periodo; siendo sus unidades gg⁻¹.d⁻¹.

Proporción de tallo (PDT): es la relación de biomasa seca de tallo con respecto a la biomasa total seca de la planta (Di Benedetto y Tognetti, 2016). Se estimó a partir de la ecuación 5 y se expresa en g (tallos) planta⁻¹.

$$PDT = \frac{\text{biomasa seca del tallo}}{\text{biomasa total seca de la planta}} \quad (5)$$

Índice de cosecha (IC): indica la cantidad de materia seca acumulada en el órgano de interés agronómico, en relación con la biomasa total de la planta (Escalante y Kohashi, 1992). Se empleó la ecuación 6 para su determinación:

$$IC = \frac{PSM}{PSP} \quad (6)$$

Dónde: PSMT: peso seco del mini tubérculo, PSP: peso seco total de la planta.

Índice de área foliar (IAF): se evaluó con una frecuencia mensual desde los 90 hasta los 180 DDS, utilizando un Ceptómetro AccuPAR LP-80® (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

Pigmentos fotosintéticos: la determinación se realizó desde los 90 a los 210 DDS con una frecuencia mensual, utilizando el método de DMSO (Dymethyl-sulfoxide) (Barnes *et al.*, 1992). En cada fecha de muestreo (90, 120, 150, 180 y 210 DDS) se extrajeron discos de hojas de 0.5-0.8 cm de diámetro en cada tratamiento, los cuales fueron depositados en tubos eppendorf de 1 mL y almacenados en neveras de icopor para su refrigeración y

transporte al Laboratorio de Microbiología Agrícola del C.I. Turipaná-AGROSAVIA. En el laboratorio, los discos de hojas fueron colocados en tubos de ensayo con 1 mL del reactivo DMSO, posteriormente fueron colocados durante 2 horas en una estufa (Memmert, UN30, Alemania) a 80 °C. Transcurrido este tiempo, se descartó el disco de hoja y el líquido resultante se agregó en la cubeta de medio del espectrofotómetro. Posteriormente, se midió la absorbancia a 665, 649 y 480 nm en un espectrofotómetro (Genesys™ 10S UV-Vis, Thermo Scientific®, USA), empleando como blanco el DMSO. La concentración de clorofilas (siglas en inglés Chl: chlorophyll) se calculó mediante las ecuaciones 7, 8 y 9:

$$Chla \left(\frac{\mu g}{mL} \right) = 12.47A665 - 3.62A649 \quad (7)$$

$$Chla \left(\frac{\mu g}{mL} \right) = 25.06A649 - 6.50A665 \quad (8)$$

$$Cx + c(\text{carotenoides}) \left(\frac{\mu g}{mL} \right) = 1000A480 - 1.29Chla - 53.78Chlab220 \quad (9)$$

Dónde: $x + c$ = xantofilas + carotenos.

Porcentaje de tuberización: se estimó a partir del conteo del número de plantas con presencia de mini tubérculos formados al momento de la cosecha.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados en el software SAS Enterprises (Cary, NC, USA). Inicialmente, fueron comprobados los supuestos del modelo, seguidamente se realizó análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) para detectar efectos significativos entre tratamientos. Además, se graficaron las dinámicas de las medias de las variables evaluadas y se ajustaron por medio de un análisis de regresión para obtener los modelos de mejor ajuste estadístico. Las gráficas fueron realizadas en el programa Microsoft Excel®.

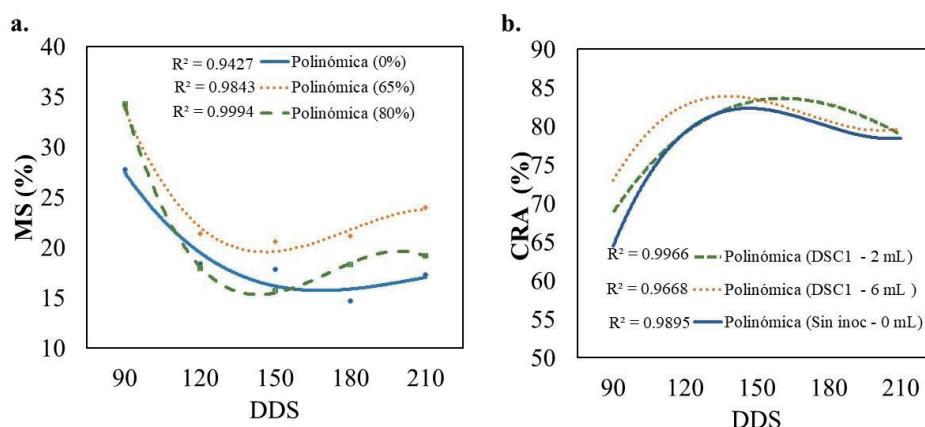


Figura 3. Respuesta de esquejes de ñame a la sombra e inoculación de *B. licheniformis*-DSC1. **a.** Comportamiento de la acumulación de Materia Seca (MS %). **b.** Contenido relativo de agua (CRA) en plantas inoculadas con la rizobacteria DSC1. Fuente: elaboración propia.

Resultados

Sobrevivencia de esquejes

Los esquejes inoculados con *B. licheniformis*-DSC1 y sombra del 65 y 80 % presentaron tasas de sobrevivencia mayores al 70 % (Figura 2). La tasa de sobrevivencia más alta con relación a la sombra fue obtenida con 65 % (Figura 2). Respecto a la dosis, el mayor porcentaje de supervivencia (98 %) se presentó con 2 mL (Figura 2).

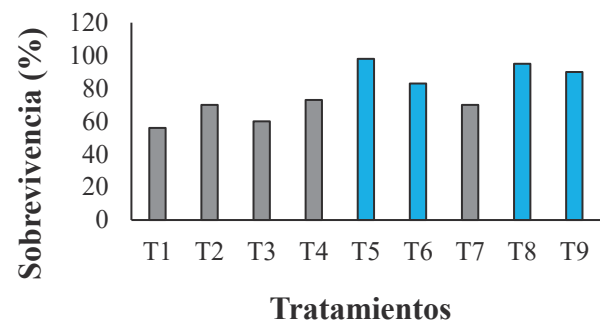


Figura 2. Sobrevivencia de esquejes apicales de ñame espino. Fuente: elaboración propia.

Efecto de *B. licheniformis*-DSC1 sobre índices de crecimiento y pigmentos fotosintéticos

La acumulación de materia seca (MS %) fue mayor con 65 % de sombra (Figura 3a). La MS no mostró variaciones significativas entre plantas inoculadas o sin inocular ($P \geq 0.05$), es decir, que el factor dosis no ejerció efecto en este parámetro. Las plantas presentaron mayor acumulación de MS a los 90 DDS con disminución progresiva hasta 180 DDS (Figura 3a). En relación con el contenido relativo de agua (Figura 3b), el factor sombra no ejerció efecto significativo ($P \geq 0.05$). La respuesta fue significativa ($P \leq 0.05$) con el uso de las dosis de inóculo, aunque entre estas no se hallaron diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$).

En cuanto a la tasa absoluta de crecimiento (TAC) y relativa (TCR) presentaron un incremento significativo del 13.8 % con sombra del 65 y 80 % en comparación con las plantas expuestas a la radiación (Figura 4a y 4b). Además, las plantas inoculadas mostraron mayor ganancia de gramos por día (entre 3 y 5 %), con respecto a las no inoculadas. La dosis 6 mL tuvo mayor efecto sobre la TAC al combinarse con 80 % de sombra (Figura 4a). Con ambas dosis de

inoculante se incrementó significativamente la TCR (Figura 4b). Además, la proporción de tallo (PDT) solo fue afectada por la sombra (Figura 4c), sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre esquejes con y sin inóculo para este índice. La correlación (Figura 4d) entre proporción del tallo e índice de cosecha muestra una relación negativa, por tanto, PDT podría ser un factor determinante en el rendimiento de mini tubérculos.

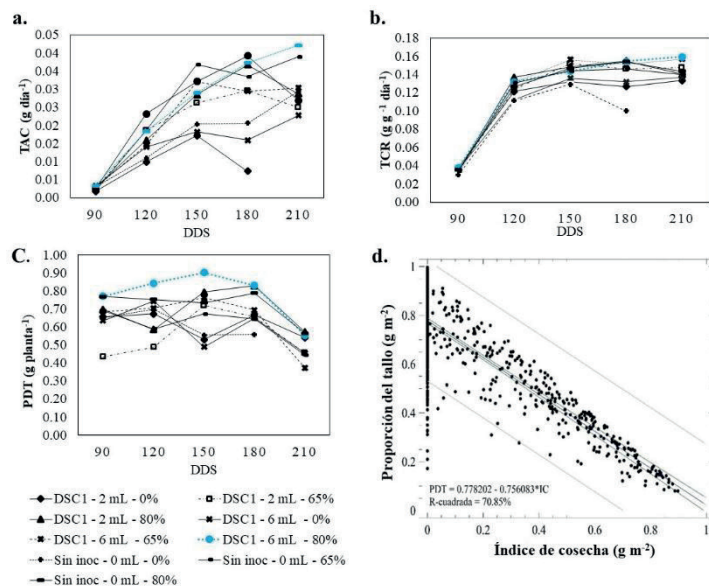


Figura 4. Efecto de niveles de sombreado e inóculo sobre tasas de crecimiento de plantas de ñame. **a.** Tasa absoluta de crecimiento (TAC). **b.** Tasa relativa de crecimiento (TRC). **c.** Proporción de tallo (PDT). **d.** Correlación entre proporción de tallo (PDT) e índice de cosecha (IC). Fuente: elaboración propia.

Los índices de crecimiento MS, CRA, TAC, TCR y PDT evaluados bajo los factores sombra y dosis de inóculo se ajustaron con mayores coeficientes de determinación a un modelo polinómico de tercer grado (tipo sigmoide). Este tipo de modelo de crecimiento en plantas permite determinar la asíntota superior donde se maximiza la respuesta del vegetal ante la interacción genotipo por ambiente, además indica el punto de inflexión, en donde la aceleración del proceso de crecimiento cambia de signo, pasando de una velocidad creciente a una decreciente.

En cuanto al índice de área foliar (IAF) de *D. rotundata* accesión 0307-49SB, los resultados demostraron que este parámetro, no estuvo influenciado por el nivel de radiación permeado por la sombra o la inoculación ($P \geq 0.05$). No obstante, a los 210 DDS las plantas bajo sombra al 65

% tuvieron mayor valor de IAF (5.58 ± 2.17) que las plantas con 80 % de sombra (4.79 ± 2.17), aunque entre estos valores no se registraron diferencias estadísticas significativas.

Los niveles de sombreado (65 y 80 %) ejercieron efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre la producción de pigmentos fotosintéticos (Figura 5a, 5b y 5c). La inoculación de *B. licheniformis*-DSC1 en dosis de 2 y 6 mL indujo una mayor producción de Chla y carotenoides (Figura 5a y 5c). Por su parte, la acumulación de Chlb (Figura 5b) no fue influenciada por la presencia de sombra o inóculo ($P \geq 0.05$). La máxima acumulación de pigmentos fotosintéticos se alcanzó a los 180 DDS con dosis de 6 mL y 65 % de sombra para Chla y carotenoides (Figura 5a y 5c). La máxima acumulación de Chlb fue obtenida con 6 mL de *B. licheniformis*-DSC1 y 65 % de sombra (Figura 5b).

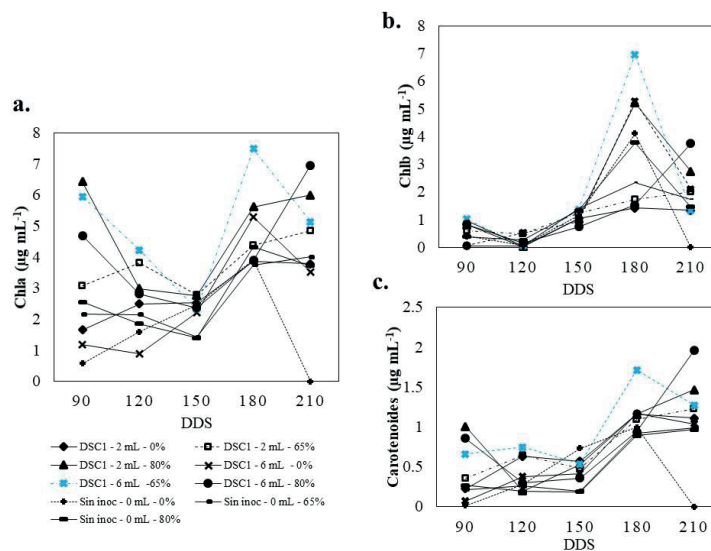


Figura 5. Efecto de la sombra e inoculación en la producción de pigmentos fotosintéticos en plantas de ñame espino. **a.** Producción de Clorofila a (Chla). **b.** Producción de Clorofila B (Chlb) **c.** Producción de carotenoides. Fuente: elaboración propia.

Figura 5. Efecto de la sombra e inoculación en la producción de pigmentos fotosintéticos en plantas de ñame espino. **a.** Producción de Clorofila a (Chla). **b.** Producción de Clorofila B (Chlb) **c.** Producción de carotenoides. Fuente: elaboración propia.

Efecto de sombra e inoculación sobre la tuberización

La producción de semilla de ñame a partir de esquejes apicales estuvo influenciada significativamente por la combinación de sombra y dosis de inóculo. En general, las plantas bajo sombra al 65 % expresaron un IC de 0.236 ± 0.02 , duplicando en IC a las plantas bajo sombra al 80 % (0.132 ± 0.015) y 0 % (0.095 ± 0.017) (Figura 6a). La mayor producción de mini tubérculos representados en IC fue obtenida a los 210 DDS con sombra del 65 % (Figura 6a), entre dosis de inóculo no se hallaron diferencias destacables (Figura 6b), por lo tanto, la inoculación de las plantas con una dosis de 2 mL permite obtener un buen porcentaje de tuberización y optimizar la producción del inóculo.

Los esquejes presentaron raíces adventicias y desarrollaron raíces tuberosas. El porcentaje de tuberización se presentó en un rango entre el 20 al 100 %. La aplicación de sombra e inóculo duplicó el porcentaje de tuberización con respecto a los esquejes no inoculados o sin sombra.

Figura 6. Crecimiento radicular y tuberización de esquejes de ñame espino. **a.** Índice de cosecha del cultivo (IC). **b.** Porcentaje de tuberización. DDS: 210. Los valores con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. Las barras indican media más el error estándar individual para cada tratamiento. Fuente: elaboración propia.

Discusión

A partir de los hallazgos encontrados en este estudio se logró evidenciar que la producción de semillas a partir de esquejes apicales constituye una estrategia viable de multiplicación para ñame espino. La inoculación de *B. licheniformis*-DSC1 y uso de sombra mejoró la sobrevivencia e indujo un mayor porcentaje de tuberización.

El efecto positivo de los niveles de sombreado (65 y 80 %) sobre el crecimiento, se encuentra estrechamente relacionado con el origen genético y domesticación del ñame espino, el cual es un híbrido homoploide procedente de la especie de sabana *D. abyssinica* y la especie forestal *D. praehensilis* (Sugihara *et al.*, 2020) y su distribución ocurrió en el ecotono de bosque/sabana adaptándose a diferentes regímenes lumínicos (Scarcelli *et al.*, 2019). De acuerdo con Onwueme y Johnston (2000), la aplicación de sombra sobre el cultivo de ñame genera incrementos del área foliar y cambios en el grosor de la epidermis de las hojas. El cambio en el tamaño de las hojas podría deberse a medidas compensativas como respuesta a la presencia de sombra; lo cual genera variaciones en el contenido de pigmentos fotosintéticos e incrementa la clorofila en plantas bajo sombra, lo cual puede ser consistente con los resultados de Johnston y Onwueme (1998) en diferentes raíces y tubérculos, incluidos el ñame, donde se observó un incremento significativo de pigmentos fotosintéticos en plantas bajo sombra en comparación con plantas no sombreadas. Este incremento de clorofila podría considerarse una importante adaptación a las condiciones de sombra, relacionada con la capacidad de la planta para aprovechar limitadas cantidades de luz incidente. En este estudio, la máxima acumulación de pigmentos fotosintéticos ocurrió a los 180 DDS y su posterior descenso puede considerarse un signo de precocidad en los esquejes plantados. Las

plantas de ñame con baja precocidad muestran retraso en la senescencia de las hojas, causado por estrés abiótico, el sostenimiento de hojas verdes reduce la elongación y turgencia de las hojas, retardando la translocación de carbohidratos a la raíz (Rolando *et al.*, 2015), al presentarse amarillamiento de las hojas se incrementa la acumulación de carbohidratos en la raíz, lo que es consistente con la reducción de los pigmentos fotosintéticos a los 210 DDS y el incremento del índice de cosecha (IC) en el mismo periodo de tiempo.

En investigaciones de Primananda (2020), resalta el efecto beneficioso del uso de niveles regulados de intensidad lumínica (50-60 %) para optimizar la producción del cultivo, mejorar el comportamiento fisiológico de la planta y la estructura morfológica y anatómica de las hojas. El ñame es una planta que requiere intensidad lumínica moderada para reducir la alta fotorrespiración; producto de su metabolismo como planta C3 que incrementa su adaptación a condiciones ambientales estresantes (Cornet *et al.*, 2007). Bajo estas condiciones de sombra las plantas de ñame desarrollan hojas más grandes para mejorar la captura de luz, estas variaciones también son visibles en el aumento de la longitud del tallo e incremento de la proporción de tallo (PDT), aunque el crecimiento radicular no responde directamente a la luz, las plantas con cambios morfológicos en el tallo y mayor PDT tienden a desarrollar raíces menos gruesas para mitigar la pérdida de nutrientes por demanda de transpiración y conductancia estomática (Poorter *et al.*, 2019). El aumento de la PDT puede incrementar el nivel de auxinas y ácido giberélico, retrasando la tuberización e induciendo el crecimiento vegetativo (Mariana y Hamdani, 2016), consistente con la relación negativa hallada entre el PDT y el IC en este estudio. Los resultados indican que el PDT disminuye a los 210 DDS y es menor en las plantas inoculadas con 2 y 6 mL de *B. licheniformis*-DSC1, con 0 y 65 % de sombra. La relación negativa entre el PDT y el índice de cosecha del ñame se ha documentado previamente en otras raíces y tubérculos. Investigaciones realizadas por Ramírez *et al.* (2017) determinaron la correlación negativa entre el área foliar y el almacenamiento de materia seca en tubérculos de camote, la cual se considera un aspecto positivo en el cultivo de tubérculos con fines productivos. La tuberización precoz se asocia con la translocación temprana de carbohidratos a la raíz, por lo que se evita la pérdida de carbohidratos para mantenimiento durante la respiración en las hojas (De Souza *et al.*, 2017).

Al parecer, la intensidad lumínica y las hormonas vegetales constituyen un factor determinante en los procesos de multiplicación de mini tubérculos a partir de esquejes. Al respecto, Agele *et al.* (2010), determinaron que la aplicación de ácido indolbutírico (IBA) al 1 % en esquejes del genotipo TDr 93-49 mejoró en 70 % el enraizamiento y en un 37.62 % la tuberización. En este sentido, Oyetunji y Afolayan (2014), encontraron que la utilización de casa

de malla para aclimatación de esquejes ayuda a mejorar la sobrevivencia, contenido de clorofila y agua y el peso de los mini tubérculos.

El uso de rizobacterias en procesos de multiplicación de ñame a partir de esquejes, hasta la fecha, ha sido limitado dado el escaso desarrollo de investigaciones en cultivos de subsistencia como el ñame, por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio constituyen un primer reporte y permiten conocer los efectos de la inoculación en la fisiología de la planta. En todos los parámetros medidos se observó que la inoculación con *B. licheniformis*-DSC1, mejoraba la respuesta de los esquejes. Informes previos indican que inocular con cepas endófitas de *Bacillus* acelera la formación de tubérculos de papa en condiciones *in vitro* y *ex vitro* (Nookaraju *et al.*, 2011). Los taxones bacterianos del cual hace parte el género *Bacillus* promueven la tuberización a través de la liberación de nutrientes del suelo, la producción de fitohormonas y la inducción de cambios en la fotosíntesis (Guo *et al.*, 2020).

El mecanismo de acción de *B. licheniformis* sobre la inducción de la tuberización podría deberse a la segregación de la enzima ACC desaminasa (1-aminociclopropano-1-carboxílico) y la utilización de ACC como fuente única de nitrógeno mitigando el efecto adverso del etileno sobre la reducción de la longitud radicular y posterior diferenciación (Chookietwattana y Maneewan, 2012). El género *Bacillus* también puede secretar especies reactivas de oxígeno (ROS) que regulan la biosíntesis de ácido giberélico promoviendo la tuberización en condiciones *in vitro* (Kim *et al.*, 2007). Reportes previos indican que los inóculos de *B. licheniformis*, pueden perdurar de cuatro a cinco semanas en el suelo después de un tratamiento único y el microorganismo puede ser detectable a los 50 días después de la inoculación, promoviendo de manera sinérgica el crecimiento vegetal (Lim *et al.*, 2011), como se observó en los tratamientos inoculados en este estudio.

Los resultados de esta investigación sugieren que la perspectiva futura en los esquemas de multiplicación en ñame espino deberá incluir la utilización de esquejes apicales mantenidos bajo niveles regulados de sombra e inoculantes a base de *B. licheniformis*-DSC1, como estrategia para facilitar la disponibilidad del material vegetal en las diferentes épocas del año a los agricultores y por ende ayudar a mejorar la eficiencia económica del cultivo de ñame en la región Caribe de Colombia.

Conclusiones

La inoculación de esquejes apicales de ñame espino con *B. licheniformis*-DSC1 bajo condiciones de casa de malla, incrementó en un 42 % la tasa de supervivencia y el contenido de agua en la planta. Asimismo, las plantas inoculadas bajo sombrío registraron mayores tasas de

tuberización en comparación con plantas no inoculadas. La utilización de esquejes apicales e inoculantes microbianos a base de *B. licheniformis*-DSC1 constituyen una estrategia exitosa para mejorar la disponibilidad de material de siembra. Adicionalmente, esta estrategia de multiplicación contribuirá a obtener un mayor número de semillas y a mejorar la calidad en cada ciclo productivo, por ende, ayudará a mejorar los niveles de calidad de vida socioeconómicos de los agricultores y salvaguardar la seguridad alimentaria. La incorporación de bioinoculantes en el esquema de producción de ñame contribuirá a la recuperación de los suelos y conservación de la diversidad biológica y cultural en las regiones productoras, fomentando la sustentabilidad ecológica.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Colombiano bajo el convenio TV19 con AGROSAVIA, a través del proyecto “Desarrollo de tecnologías para el manejo y producción de semillas de calidad para mejorar la uniformidad y productividad del cultivo de ñame de la región Caribe”. Se agradece al profesional de apoyo a la investigación Abelardo Tulio Díaz Cabadiá y a la asistente de investigación Diris Sofia Pernet Peña por su colaboración en la ejecución de esta investigación.

Referencias

- Agele, S.O., Ayankanmi, T.G., y Kikuno, H. (2010). Effects of synthetic hormone substitutes and genotypes on rooting and mini tuber production of vines cuttings obtained from white yam (*Dioscorea rotundata*, Poir). *African Journal of Biotechnology*, 9(30), 4714-4724. <https://bit.ly/3DgZLsw>
- Aguilar-Carpio, C., Juárez-López, P., Campos-Aguilar, I.H., Alía-Tejagal, I., Sandoval-Villa, M., y López-Martínez, V. (2018). Análisis de crecimiento y rendimiento de uchuva (*Physalis peruviana* L.) cultivada en hidroponía e invernadero. *Revista Chapingo*, 24(3), 191-202. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.07.024>
- Asfaw, A., Aderonmu, D.S., Darkwa, K., De Koeyer, D., Agre, P., Abe, A., y Asiedu, R. (2021). Genetic parameters, prediction, and selection in a white Guinea yam early-generation breeding population using pedigree information. *Crop science*, 61(2), 1038-1051. <http://dx.doi.org/10.1002/csc2.20382>
- Balogun, M.O., Maroya, N., y Asiedu, R. (2014). Status and prospects for improving yam seed systems using temporary immersion bioreactors. *African Journal of Biotechnology*, 13(15), 1614-1622. <https://doi.org/10.5897/AJBX2013.13522>
- Barnes, J. D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S., y Davison, A. W. (1992). A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental botany*, 32(2), 85-100. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(92\)90034-Y](https://doi.org/10.1016/0098-8472(92)90034-Y)
- Brice, D. K. E., Michel, K. A., Elisée, A. L. O. D. G., Bernard, B. L. J., Innocent, D. A., Sidoine, E. B., y Emmanuel, D. A. (2019). Effect of plant growth hormones and liquid fertilizer on rooting and tuberization of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) vine cuttings. *American Journal of Plant Sciences*, 10(10), 1903-1920. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2019.1010134>
- Chauhan, A., Saini, R., y Sharma, J.C. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria and their biological properties for soil enrichment and growth promotion. *Journal of Plant Nutrition*, 1-27. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1952221>.
- Chookietwattana, K., y Maneewan, K. (2012). Selection of efficient salt-tolerant bacteria containing ACC deaminase for promotion of tomato growth under salinity stress. *Soil & Environment*, 31(1), 30-36. <https://bit.ly/3Dus1q3>
- Claudius-Cole, A. O., Omotayo, T. O., y Montes, A. L. (2020). Nodal vine cutting technique for assessing nematode resistance in yams. *Tropical Plant Pathology*, 45(1), 56-63. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00325-9>
- Cornet, D., Sierra, J., y Bonhomme, R. (2007). Characterization of the photosynthetic pathway of some tropical food yams (*Dioscorea* spp.) using leaf natural ¹³C abundance. *Photosynthetica*, 45(2), 303-305. <https://doi.org/10.1007/s11099-007-0050-0>
- De Souza, A. P., Massenburg, L. N., Jaiswal, D., Cheng, S., Shekar, R., y Long, S. P. (2017). Rooting for cassava: insights into photosynthesis and associated physiology as a route to improve yield potential. *New Phytologist*, 213(1), 50-65. <https://doi.org/10.1111/nph.14250>
- Di Benedetto, A., y Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 42(3), 258-282. <https://bit.ly/31AMjBI>

- Dibi, K.E.B., Kouakou, A.M., Camara, B., N'zué, B. y Zohouri, G.P. (2016) Inventaire des méthodes de production de semences d'igname (*Dioscorea* spp): Une revue de la littérature. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 29, 4496-4514. <http://www.m.elewa.org/JAPS/2016/29.1/1.Dibi.pdf>
- Escalante, E., J. A. S., y Kohashi, S. J. (1992). Efecto del sombreado artificial sobre algunos parámetros del crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) *Agrociencia*, 48, 29- 38. <https://bit.ly/3otv651>
- Escobar-Mamani, F., Branca, D., y Haller, A. (2020). Investigación de montaña sobre y para la región andina. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(4), 311-312. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.191>
- Gil, R., Bautista, I., Boscaiu, M., Lidón, A., Wankhade, S., Sánchez, H., y Vicente, O. (2014). Responses of five Mediterranean halophytes to seasonal changes in environmental conditions. *AoB Plants*, 6, 1-18. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu049>
- Guo, H., Hong, C., Zhang, J., Qin, W., y Wei, B. (2020). Soil bacterial communities associated with stony soils influence the tuber size of *Tetragymma hemsleyanum*. *Research Square*. 1, 1-22. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-32788/v1>
- Haller, A., y Branca, D. (2020). Montología: una perspectiva de montaña hacia la investigación transdisciplinaria y el desarrollo sustentable. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(4), 313-322. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.193>
- <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aaw1947>
- Johnston, M., y Onwueme, I.C. (1998). Effect of shade on photosynthetic pigments in the tropical root crops: yam, taro, tannia, cassava and sweet potato. *Experimental agriculture*, 34(3), 301-312. <https://doi.org/10.1017/S0014479798343033>
- Kim, M.S., Kim, H.S., Kim, Y.S., Baek, K.H., Oh, H.W., Hahn, K.W., y Jeon, J.H. (2007). Superoxide anion regulates plant growth and tuber development of potato. *Plant cell reports*, 26(10), 1717-1725. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0380-1>
- Lim, J. H., Ahn, C.H., Jeong, H.Y., Kim, Y.H., y Kim, S.D. (2011). Genetic monitoring of multi-functional plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11 by multiplex and real-time polymerase chain reaction in a pepper farming field. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54(2), 221-228. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2011.036>
- Luna-Castellanos, L.L. y Sánchez-López, D.B. (2022). Optimización de medios de cultivos con fuentes agroindustriales para el crecimiento del ñame espino (*Dioscorea rotundata* Poir) *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 21(1), 67-83. <https://doi.org/10.14409/fa.v21i1.11115>
- Mariana, M., y Hamdani, J.S. (2016). Growth and yield of *Solanum tuberosum* at medium plain with application of paclobutrazol and paranet shade. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 26-30. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.117>
- Maroya, N., Balogun, M., Asiedu, R., Aighewi, B., Kumar, P.L., y Augusto, J. (2014). Yam propagation using 'aeroponics' technology. *Annual Research & Review in Biology*, 3894-3903. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/11632>
- Martínez-Reina, A.M., Tordecilla-Zumaqué, L., Grandett-Martínez, L. M., Regino-Hernández, S. M., Luna-Castellanos, L. L., y Pérez-Cantero, S. P. (2021). Analysis of the technical efficiency of the cultivation of yam (*Dioscorea* spp.) in the Caribbean Region of Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 15(2), 1-10. <https://doi.org/10.17584/rcch.2021v15i2.12445>
- Nookaraju, A., Kappachery, S., Yu, J.W., y Park, S.W. (2011). Rhizobacteria influence potato tuberization through enhancing lipooxygenase activity. *American journal of potato research*, 88(6), 441-449. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9210-7>
- Okongor, G., Njoku, C., Essoka, P., y Effiong, J. (2021). Climate Variability and Yam Production: Nexus and Projections. *Sarhad Journal of Agriculture*, 37(2), 406- 418. <https://bit.ly/3yjroPq>
- Onwueme, I. C., y Johnston, M. (2000). Influence of shade on stomatal density, leaf size and other leaf characteristics in the major tropical root crops, tannia, sweet potato, yam, cassava and taro. *Experimental Agriculture*, 36(4), 509-516. <https://doi.org/10.1017/S0014479700001071>
- Oyetunji, O.J., y Afolayan, E.T. (2014). Chlorophyll, Relative Water Content and Yield Assessment of Yam (*Dioscorea rotundata* Poir) Vine Cuttings for Mini Tuber Production under Varying Environmental

- Conditions. *International Journal of Pure & Applied Sciences & Technology*, 24(1),10-17. <https://bit.ly/3Llu982>
- Palencia, G., Mercado, T., y Combatt, E. (2006). Estudio agro-meteorológico del Departamento de Córdoba. 126 p. *Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba. Gráficas del Caribe. Montería-Córdoba.*
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Ntagkas, N., Siebenkäs, A., Mäenpää, M., Matsubara, S., y Pons, T. (2019). A meta-analysis of plant responses to light intensity for 70 traits ranging from molecules to whole plant performance. *New Phytologist*, 223(3), 1073-1105. <https://doi.org/10.1111/nph.15754>
- Primananda, E. (2020). Morpho-anatomical adaptation of lesser yam (*Dioscorea esculenta*) on different planting pattern and relative light intensity in Java community forest. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 449, 1-12. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/449/1/012009>
- Ramírez, D.A., Gavilán, C., Barreda, C., Condori, B., Rossel, G., Mwanga, R.O.M., y Quiroz, R. (2017). Characterizing the diversity of sweetpotato through growth parameters and leaf traits: Precocity and light use efficiency as important ordination factors. *South African Journal of Botany*, 113, 192-199. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.08.009>
- Rolando, J.L., Ramírez, D.A., Yactayo, W., Monneveux, P., y Quiroz, R. (2015). Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 110, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.09.006>
- Sánchez-López, D.B., y Pérez-Pazos, J.V. (2018). Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro. *Agronomía Costarricense*, 42(2), 75-91. <http://dx.doi.org/10.15517/rac.v42i2.33780>
- Sánchez, D., Pérez, J., Luna, L., García, J., y Espitia, A. (2018). Evaluación de *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas denitrificans* en *Dioscorea rotundata* en condiciones de campo. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 17(1), 35-43. <https://doi.org/10.14409/fa.v17i1.7647>
- Sánchez, D.B., Luna, L.L., Espitia, A., y Cadena, J. (2021). Yield response of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) to inoculation with *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilization in the Caribbean region of Colombia. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 47(1), 61-70. <https://bit.ly/3wLf0Zv>
- Scarcelli, N., Ccubry, P., Akakpo, R., Thuillet, A. A., Obidiegwu, J., Bbaco, M. N., & Vigouroux, Y. (2019). Yam genomics supports west Africa as a major cradle of crop domestication. *science advances*, 5(5),1-7. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw1947>
- Sugihara, Y., Darkwa, K., Yaegashi, H., Natsume, S., Shimizu, M., Abe, A., y Terauchi, R. (2020). Genome analyses reveal the hybrid origin of the staple crop white Guinea yam (*Dioscorea rotundata*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(50), 31987-31992. <https://doi.org/10.1073/pnas.2015830117>
- Tamara, M.R.E., Luna, C.L.L., Espitia, M. A. A., Novoa, Y. R. S., Regino, H. S. M., y De la Ossa, A.V.A. (2021). Respuesta del ñame espino a diferentes densidades de siembra y altura de espalderas. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(4), 210-219. <https://doi.org/10.18271/ria.2021.271>
- Valerga, L., Darré, M., Zaro, M.J., Arambarri, A., Vicente, A.R., Lemoine, M.L., y Concellón, A. (2019). Microstructural and quality changes in growing dark-purple eggplant (*Solanum melongena* L.) as affected by the harvest season. *Scientia Horticulturae*, 244, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.032>
- Wickham, L. (2019). Successful manipulation of the growth cycle of yam (*Dioscorea* spp.) for year-round production for food security and climate change. *Tropical Agriculture*, 98(3),326-336. <https://bit.ly/3y69FLg>