

INCREMENTO DE LA EFICIENCIA EN EL ESTABLECIMIENTO *in vitro* DE LA MALANGA (*Xanthosoma spp.* y *Colocasia esculenta* (L.) Schott)

Diosdada Gálvez Guerra*, Sergio Juan Rodríguez Morales, Juan Ramón Gálvez Guerra, Marilys Milián Jiménez, Ania Robaina Jiménez, Maricel Bauta Toledo.

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.

*Autor para la correspondencia: propag.biotec@inivit.cu

RESUMEN

Una de las alternativas para lograr incrementar los rendimientos en las malangas (*Xanthosoma spp.* y *Colocasia esculenta*, Schott) es la aplicación de los métodos biotecnológicos, tanto para la obtención de nuevos genotipos, como para el saneamiento de hongos patógenos y producción de semillas. El presente trabajo se desarrolló con el objetivo de aumentar la sobrevivencia y disminuir la contaminación en la fase de establecimiento. Se utilizaron cinco tratamientos: yemas de cormos decapitados y grellados y yemas axilares aún protegidas por las hojas como explantes. Las yemas de los cormos sin decapitar fue la mejor fuente de explantes para el establecimiento *in vitro* porque con ellos se logra obtener más de 300 meristemos por cormo. Con las yemas de los cormos sin decapitar se reducen los niveles de contaminación de 40 % a menos de un 2 %, se aumenta la velocidad de crecimiento de los explantes y los índices de supervivencia. Se debe realizar el establecimiento partiendo de las yemas de los cormos sin decapitar. Se recomienda validar para su generalización la respuesta de la metodología propuesta en otros clones de interés en los programas de desarrollo de este cultivo y utilizar la metodología como una alternativa para el intercambio internacional de germoplasma.

Palabras clave: explantes, *in vitro*, malanga *Xanthosoma* y *Colocasia*, multiplicación.

INCREASE IN EFFICIENCY IN THE *in vitro* ESTABLISHMENT STAGE OF COCOYAM (*Xanthosoma spp.*) AND TARO (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

ABSTRACT

One of the alternatives to increase yields in aroids *Colocasia esculenta* Schott and *Xanthosoma spp.*, is the application of biotechnological methods to obtain new genotypes, as well as for sanitation of fungi pathogens and seed production. The main objective of this research was to increase survival and reduce contamination in the establishment stage. Five treatments were used: buds of decapitated corms and sprout corms, and axillary buds still protected by the leaves, were used as explants. Buds of non-decapitated corms were the best source of explants for the *in vitro* establishment of taro and cocoyam because with them it was possible to obtain more than 300 meristems per corm. There is a reduction of contamination levels from 40 % to less than 2 % when non-decapitated buds of corms were used, as well as, an increase in the growth speed of explants and survival rates. The establishment should be carried out starting from buds of non-decapitated corms. It is recommended to validate the response of the

proposed methodology in other clones of interest for its generalization in the crop development programs, and to use the methodology as an alternative for the international germplasm exchange.

Keywords: explants, *in vitro*, taro *Xanthosoma* y *Colocasia*, multiplication.

INTRODUCCIÓN

Las malangas (*Xanthosoma* spp. y *Colocasia esculenta* Schott) ha formado parte de la dieta del cubano por sus características organolépticas y demostrada digestibilidad. Los cultivares del género *Colocasia esculenta*, conocidos como “malanga isleña” se destacan por su adaptabilidad a suelos tipo Gley, ciclo de cosecha entre 9 y 11 meses y elevado potencial productivo y los del género *Xanthosoma* spp. se caracterizan en su mayoría por ser de ciclo más largo, cuya cosecha se realiza a partir de los 11 a 12 meses, pero son más tolerantes a la sequía y para ambos el suelo constituye un almacén natural, posibilitando con ellos ampliar la oferta de esta vianda en el mercado durante los 12 meses del año (Rodríguez *et al.*, 2010).

En Cuba se ha venido incrementando el área de malanga (*Colocasia* y *Xanthosoma*) debido a su alta demanda y cualidades para mitigar el impacto de los huracanes, en el 2018 se plantaron 15,200 ha de esta vianda correspondiendo 10,800 ha a las del género *Xanthosoma* y 4,200 ha del género *Colocasia* alcanzándose una producción total en el año 2017 de 150,000 ton de ellas 100,000 ton del género *Xanthosoma* y 50,000 ton de la *Colocasia* (MINAG, 2017) y como estrategias del Ministerio de la Agricultura se propone obtener un aumento significativo en la producción de este cultivo, con la finalidad de satisfacer su creciente demanda en el mercado.

En los últimos años el traslado indiscriminado de semillas entre las distintas provincias ha diseminado los principales agentes patógenos, lo que ha provocado serias afectaciones sanitarias en las plantaciones de todo el país (Rodríguez *et al.*, 2010).

Las técnicas biotecnológicas son empleadas como una herramienta auxiliar para la multiplicación de material libre de enfermedades (Jiménez y De Fera, 1998). Las mismas han servido para generalizar nuevas variedades de plantas obtenidas mediante selección, mutación, programas de mejora y manipulación genética (Archibald, 2005). Una de las alternativas para lograr incrementar los rendimientos en este cultivo, puede ser la aplicación de los métodos biotecnológicos, tanto para la obtención de nuevos genotipos, como para el saneamiento a hongos patógenos y producción de semillas (García *et al.*, 1999; Archibald, 2005).

Diversos clones de malanga han sido propagados usando la técnica del cultivo *in vitro* vía organogénesis directa; a través de yemas axilares, siendo este el sistema de regeneración en el cual se reportan los menores índices de variación genética (García *et al.*, 1999; Dottin, 2000; Chien-Ying *et al.*, 2008).

Con el fin de encontrar nuevas fuentes de material para el establecimiento *in vitro* que permitan obtener un mayor número de explantes por planta y a la vez un proceso más eficaz, o sea con menos muertes y contaminación, fue que se inició el presente trabajo con el principal objetivo de aumentar la sobrevivencia y disminuir la contaminación en la fase de establecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT); ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

Para el desarrollo de los experimentos, se empleó el medio de cultivo basal, compuesto por las sales inorgánicas y vitaminas propuestas por Murashige y Skoog (MS) (1962) con las modificaciones propuestas por García *et al.* (1999).

El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5,7 con NaOH 0,5 mol.L⁻¹ o HCl 0,5 mol.L⁻¹ antes de la esterilización en autoclave; los medios que se emplearon en los experimentos se esterilizaron por vapor en autoclave vertical (BK-75) a 121°C y 1,20 kg.cm⁻². El tiempo de esterilización varió en dependencia del volumen a esterilizar, según información técnica de la compañía SIGMA (1991). Los cormos empleados para la obtención de semillas procedieron de plantas diagnosticadas como libres de virus antes de ser plantadas.

Los cormos y las yemas fueron desinfectados con hipoclorito de Sodio al 3 % por 20 minutos (Calvo *et al.*, 2007). En cada uno de los tratamientos se establecieron *in vitro* 100 meristemas. Se colocó un explante por tubo de ensayo, que contenía 10 mL del medio de cultivo compuesto por las Sales y vitaminas MS, y 0,1 mg.L⁻¹ de 6-BAP (García *et al.*, 1999).

Los explantes fueron cultivados a los primeros 15 días a baja intensidad luminosa y posteriormente a 1 500-3 000 lux, 27 ± 2° C, fotoperíodo de 16 horas.

Se utilizaron como explantes las yemas de cormos decapitados y grelos y yemas axilares aún protegidas por las hojas, los tratamientos fueron los siguientes:

T: Yemas procedentes de cormos decapitados y grelos

A: Yemas de las anillas de cormos sin decapitar sembradas individualmente

B: Yemas de las anillas de cormos sin decapitar sembradas en grupos de tres

C: Yemas de mayor tamaño de las anillas de cormos sin decapitar

D: Yema apical de cormos sin decapitar

Se utilizaron los clones: 'Camerún 14' (C.14); México-8' (M-8); 'Amarilla Especial' (A.E.) y 'Blanca INIVIT' (B.I.)

Los datos se procesaron estadísticamente mediante el procedimiento no paramétrico de *Kruskal-Wallis*, (Kruskal y Wallis, 1952).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El origen de las yemas axilares de malanga para establecer *in vitro* influyó cuando se utilizaron yemas de cormos sin decapitar (Figura 1). En la Tabla 1 el número de yemas es mayor, también puede apreciarse en estos resultados que el porcentaje de contaminación disminuye desde un 40 % hasta menos de un 2 % al emplear las yemas axilares que se encuentran cubiertas por las hojas.

El hipoclorito de sodio ha sido usado tradicionalmente en la desinfección de materiales vegetales a establecer *in vitro*, por su alto potencial redox 1,36 eV (Calvo *et al.*, 2007). En cada protocolo para el establecimiento de especies vegetales es necesario ajustar la concentración y el tiempo de exposición al mismo. Por lo general se han usado concentraciones desde 1,0 a 6,0 % en dependencia de las características morfológicas e higiénica del material vegetal a establecer (Ruano, 2015).



Figura 1. Yemas de cormos sin decapitar para establecer *in vitro*.

Tabla 1. Efecto del origen de las yemas en el establecimiento *in vitro*.

CLON	Cormos Decapitados y Grelados		Cormos sin Decapitar	
	# de Yemas	% de Contaminación	# de Yemas	% de Contaminación
'México-8'	43b	38b	340a	1a
'Amarilla Especial'	62b	42b	403a	2a

Medias con letras no comunes en las filas difieren según prueba no paramétrica de *Kruskall Wallis* para $p < 0,05$ ($n=50$).

Al comparar los diferentes orígenes de los explantes (Tabla 2) en los clones 'Camerún 14' y 'Blanca INIVIT', pudo comprobarse que las yemas que se obtienen de cormos sin decapitar superaron en todas las variables analizadas (velocidad de crecimiento, mortalidad y contaminación) al testigo (yemas procedentes de cormos decapitados y grellados). Este resultado se comportó de la misma forma para ambos clones, aunque fue algo más marcado para el clon 'Blanca INIVIT'.

Tabla 2. Efecto de diferentes orígenes de las yemas en el establecimiento *in vitro*.

	T		A		B		C		D	
	B.I.	C.14	B.I.	C.14	B.I.	C.14	B.I.	C.14	B.I.	C.14
Formación de plantas (%)	12,5b	0,0 b	100a	91,6a	100a	91,6a	100a	100a	100a	100a
Mortalidad (%)	20,8b	58,3b	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
Contaminación (%)	20,8b	25b	0a	8,3a	0a	8,3a	0a	0a	0a	0a

Medias con letras no comunes en las filas difieren según prueba no paramétrica de *Kruskall Wallis* para $p < 0,05$ ($n=50$).

Formación de plantas. $X^2=72,2^{**}$ Mortalidad $X^2=122,23^{**}$ Contaminación $X^2=50,01^{**}$

Leyenda:

B.I.= 'Blanca INIVIT' C.14= 'Camerún 14' T: Yemas procedentes de cormos decapitados y grellados A: Yemas de las anillas de cormos sin decapitar sembradas individualmente B: Yemas de las anillas de cormos sin decapitar sembradas en grupos de tres C: Yema de mayor tamaño de las anillas de cormos sin decapitar D: Yemas apical de cormos sin decapitar.

Esta respuesta superior de las yemas que se encuentran protegidas por las hojas, puede estar dada, ya que estas no se encuentran a los mismos niveles de contaminación que las de los cormos que están en contacto directo con el suelo, y por consiguiente el proceso de desinfección de las yemas protegidas, le causa menos daños y a la vez el proceso es más eficientes.

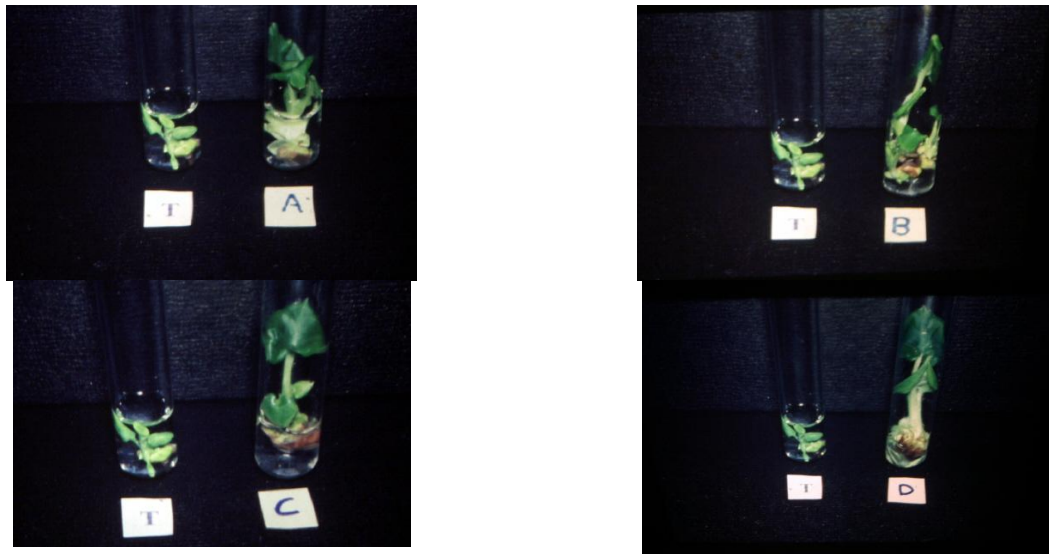


Figura 2. Características morfológicas de los explantes de malanga en cada uno de los tratamientos evaluados a los 30 días de cultivo.

Los resultados se corresponden con los descritos para el establecimiento *in vitro* de 25 clones de *Colocasia esculenta* var. que fueron conservados *in vitro* por Calvo *et al.* (2007). Estos autores emplearon el hipoclorito de sodio al 3,0 %, en un periodo de tiempo que varió de 20 a 30 minutos para la desinfección de las yemas brotadas de los cormos y obtuvieron eficiencias en cuanto al establecimiento entre 70 y 83 %.

De forma comparativa se puede apreciar que la aplicación del nuevo método reporta una ganancia de \$ 20 780,00 por cormo en igual período de tiempo y los explantes muestran un mayor vigor en su desarrollo y en general un mejor comportamiento *in vitro*. Esta nueva variante permite un ahorro de 30 cormos por cada 20 000 explantes.

CONCLUSIONES

Las yemas de los cormos sin decapitar es la mejor fuente de explantes para el establecimiento *in vitro* de la malanga pues con ellas se logra alcanzar más de 300 meristemos por cormos.

Al emplearse las yemas de los cormos sin decapitar se reducen los niveles de contaminación de 40 % a menos del 2 %, se aumenta la velocidad de crecimiento de los explantes y los índices de supervivencia.

RECOMENDACIONES

Deben utilizarse las yemas de los cormos sin decapitar para el establecimiento de los clones estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

- ARCHIBALD, K. 2005. Caribbean Agricultural Research and Development Institute (CARDI). *Ann. Rep.*, pp. 6-11.
- CALVO, E.; R. BARBÓN; E. JIMÉNEZ; M. de FERIA; M. CHÁVEZ; A. CAPOTE y N. PÉREZ. 2007. Biomass production of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., a medicinal plant, in temporary immersion systems. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 42:298-300.
- CHIEN-YING, K.; K. JI-PING y R. MC DONALD. 2008. *In vitro* micropropagation of white dasheen (*Colocassia esculenta*). *African Journal of Biotechnology*, 7(1):041-043.
- DOTTIN, M. 2000. Propagación *in vitro* de la malanga (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott). Tesis presentada para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba.
- GARCÍA, M.; V. MEDERO; S. RODRÍGUEZ; J. LÓPEZ; J. VENTURA; M. CABRERA; R. HERNÁNDEZ; J.E. GONZÁLEZ; D. BERMÚDEZ; D. GÁLVEZ; V. GUTIÉRREZ y J.R. GÁLVEZ. 1999. Generalización de la metodología para la micropropagación de la malanga (*Xanthosoma* spp.) en Cuba. En: 5^{to} Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal, pp. 167-169.
- JIMÉNEZ, E. y M. De FERIA. 1998. Empleo de biorreactores para la propagación masiva. En: Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Pérez, J. (Ed). Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara. Cuba. p. 207-222.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- RODRÍGUEZ, S.; M. GARCÍA; V. MEDEROS; J. LÓPEZ y J. VENTURA. 2010. El cultivo de la malanga isleña (*Colocasia esculenta*) en Cuba. Conferencia Consejo Técnico Asesor, MINAG. INIVIT, 15p.
- RODRÍGUEZ, S.; M. GARCÍA; M. FOLGUERAS; L. RUIZ; A. MORALES; M.C. CASTELLÓN; M. LIMA; E. ESPINOSA; M. MILIÁN; N. MAZA; R. FILIPIA; Y. RODRÍGUEZ; J.L. RAMOS; J. VENTURA; L. GONZÁLEZ; L. MORALES; J. GONZÁLEZ; E. RUIZ; J.A. CRUZ; V. MEDERO; J. LÓPEZ; A. RAYAS; M. BASAIL; A. SANTOS; C. PONS y R. GARCÍA. 2012. Instructivo técnico para la producción de semillas de viandas. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT)-Ministerio de la Agricultura (MINAG), La Habana. ISBN: 978-959-295-006-1. FAO, 2012. p. 77-94.
- RUANO, E.E. 2015. Establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba watsoniana* a partir de yemas axilares. Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Zamorano, Honduras. 14 p.
- SIGMA. 1991. Catalogue Sigma Chemical Company. USA.
- KRUSKAL W.H. and W.A. WALLIS. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260):583-621.