

Efecto del manejo a brotes *in vitro* de *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott y *Colocasia esculenta* (L.) Schott durante la fase de multiplicación

Diosdada Galvez Guerra¹, Sergio Juan Rodríguez Morales¹, Marilys Milián Jiménez¹, Juan Ramón Galvez Guerra¹, Laisyn Posada-Pérez², Rafael Gómez Kosky³, Adrián Rubio Cabrera¹, Ania Robaina Jiménez¹, Dion Daniels⁴, Maricel Bauta Toledo¹, Jesús García Ruíz¹

¹Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6. Santo Domingo. Villa Clara. Cuba. CP 53 000. e-mail: propag.biotec@inivit.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830.

³Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA) Centro Villa Clara. Autopista Nacional km 246. Ranchuelo. Villa Clara. Cuba. CP 53100.

⁴University of Belize. Hummingbird Avenue. Belmopan. Cayo District. Belize.

RESUMEN

Para resolver los limitados coeficientes de multiplicación *in vitro* en malanga (*Xanthosoma* y *Colocasia*) se emplean varias estrategias. Este trabajo fue realizado con el objetivo de determinar el efecto del manejo a los brotes *in vitro* de ambas especies de malanga que permita incrementar el coeficiente de multiplicación con el fin de desarrollar un método sencillo de propagación *in vitro* de este cultivo. Se emplearon cuatro cultivares de *Xanthosoma* ('México 1', 'México 8', 'Amarilla Especial', 'Selección INIVIT') y el cultivar 'Camerún 14' de *C. esculenta* en la fase de multiplicación. Los tratamientos incluyeron variantes de decapitado y corte de los brotes. A los 25 días de cultivo se cuantificó el número de brotes por explante y se determinó la masa fresca. Los mejores resultados se alcanzaron con los tratamientos 6 (Decapitado 75% del brote y corte en la yema apical) y 7 (Decapitado 75% del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical) en todos los cultivares. Los coeficientes de multiplicación en ambos tratamientos variaron desde 3.00 hasta 6.98 en dependencia del cultivar. Es posible aumentar el coeficiente de multiplicación utilizando otras formas de corte de los explantes diferentes a las tradicionales empleadas (Decapitado 50% del brote y corte a bisel).

Palabras clave: brote *in vitro*, decapitado, malangas, manejo *in vitro*, multiplicación

Effect of the *in vitro* shoot handlings of *Xanthosoma sagittifolium* (L.) and *Colocasia esculenta* (L.) Schott during multiplication stage

ABSTRACT

To solve the limited *in vitro* multiplication coefficients in taro (*Xanthosoma* and *Colocasia*) several strategies are used. This work was carried out with the aim of to determine the effect of the *in vitro* management of shoots of both species of taro that allows to increase the multiplication coefficient in order to develop a simple method of *in vitro* propagation of this crop. Four cultivars of *Xanthosoma* ('Mexico 1', 'Mexico 8', 'Yellow Special', 'Selection INIVIT') and the cultivar 'Cameroon 14' of *C. esculenta* were used in the multiplication phase. The treatments included variants of decapitation and cut of the shoots. After 25 days of culture, the number of shoots per explant was quantified and the fresh mass was determined. The best results were achieved with treatments 6 (Decapitated 75% of the

shoot and cut in the apical bud) and 7 (Decapitated 75% of the shoot, longitudinal cut and bevel of the apical bud) in all cultivars. The multiplication coefficients in both treatments varied from 3.00 to 6.98 depending on the cultivar. It is possible to increase the multiplication coefficient using other forms of cutting of the explants different from the traditional ones used (Beheaded 50% of the shoot and bevel cut).

Keywords: cocoyam, decapitated, *in vitro* handlings, *in vitro* shoot, multiplication, taro

INTRODUCCIÓN

La malanga (*Xanthosoma* spp. y *Colocasia esculenta* (L.) Schott) forman parte de la dieta de muchas personas en el mundo por sus características organolépticas y digestibilidad (Rodríguez *et al.*, 2010). La producción global en el año 2016 fue de 74.3 t ha⁻¹ en un área total de 1 407 891 ha (FAOSTAT, 2018).

En Cuba se ha venido incrementando el área de cultivo de malanga (*Colocasia* y *Xanthosoma*) debido a su alta demanda y cualidades para mitigar el impacto de los huracanes. En el 2017 se plantaron 15 200 ha, de ellas 10 800 ha del género *Xanthosoma* y 4 200 ha del género *Colocasia*, y se alcanzó una producción total de 150 000 t, de ellas 100 000 t de *Xanthosoma* y 50 000 t de *Colocasia* (MINAG, 2018). 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 (Medero *et al.*, 2016).

En los últimos años el traslado indiscriminado de semillas entre productores de malanga ha diseminado los principales agentes patógenos del cultivo. Esta práctica ha provocado serias afectaciones sanitarias en las plantaciones de todo el país (Rodríguez *et al.*, 2010). Por ello, el uso de los métodos biotecnológicos para propagar los cultivares de interés constituye una vía importante para la multiplicación de material vegetal libre de organismos fitopatógenos (Gálvez *et al.*, 2013). Esta vía ha servido a nivel mundial para introducir rápidamente en el mercado nuevos cultivares de plantas obtenidas mediante selección, mutación, programas de mejoramiento genético y manipulación genética (Archibald, 2005).

Además, constituye una de las alternativas para lograr incrementar los rendimientos en

este cultivo, obtener nuevos cultivares, así como para el saneamiento a patógenos y la producción de semilla uniforme y saneada (González, 2005). En este sentido, diferentes cultivares de malanga se han propagado mediante cultivo *in vitro*, vía organogénesis directa a través de yemas axilares. Este es el sistema de regeneración en el cual se han informado los menores índices de variación genética (Chien-Ying *et al.*, 2008). Además, es el método más confiable para lograr un proceso de proliferación repetible y libre de agentes contaminantes (Jiménez y de Fera, 2005).

Varios autores refirieron el uso de distintas combinaciones de reguladores del crecimiento en los medios de cultivo para la multiplicación *in vitro* de ambas especies de malanga (Sama *et al.*, 2012; Basail *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2017; Acedo *et al.*, 2018). Sin embargo, los coeficientes de multiplicación con el empleo de medios de cultivo estáticos continúan bajos, con valores de 2.30 a 4.50.

Para resolver los limitados coeficientes de multiplicación en varios cultivos se han desarrollado diferentes técnicas de manejo al realizar diferentes corte de los explantes, en correspondencia de la especie que se trate dentro de un mismo género (Acedo *et al.*, 2018). Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el efecto del manejo a los brotes *in vitro* de ambas especies de malanga que permita incrementar el coeficiente de multiplicación con el fin de desarrollar un método sencillo de propagación *in vitro* de este cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de Cultivos de Tejidos de plantas del Instituto de Investigaciones en Viandas

Tropicales (INIVIT); ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

Material vegetal

Se utilizaron brotes *in vitro* con dos subcultivos de multiplicación de los cultivares: 'México 1', 'México 8', 'Amarilla Especial', 'Selección INIVIT' todos pertenecientes a la especie *X. sagittifolium* (L.) Schott. y 'Camerún 14' (*Colocasia esculenta* (L.) Schott.).

Medios de cultivo

Se empleó como medio de cultivo basal el compuesto por las sales inorgánicas y vitaminas propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS) con la adición de 4.0 mg l⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BAP), 1.2 mg l⁻¹ de ácido indol-3-acético (AIA), 30 g l⁻¹ de sacarosa y 6 g l⁻¹ de agar Extraduro (BIOCEN, Cuba). El pH 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 vertical (BK-75) a 121 °C y 1.20 kg cm⁻² durante 20 min.

La cristalería y otros accesorios que se utilizaron en la manipulación del material vegetal se esterilizaron en una estufa (SUTJESKA, Japón) a 180 °C durante dos horas. El instrumental utilizado (bisturís y pinzas) se desinfectaron en un esterilizador eléctrico (DENT-EQ, Alemania) que permaneció dentro de la cabina de flujo laminar horizontal (FLUFRANCE, Francia), en la cual se realizaron las operaciones de manejo del material vegetal y el montaje de los sistemas de cultivo.

Condiciones de cultivo

Se emplearon tubos de vidrio de 16 x 2 cm con tapón de goma y 10 ml de medio de cultivo y se colocó un brote *in vitro* en cada uno. Se utilizaron 50 brotes *in vitro* como repetición por cada tratamiento. Los tubos de vidrio con los brotes *in vitro* de los distintos tratamientos fueron colocados en cámara de crecimiento a 27 ± 2°C y luz artificial (tubos fluorescentes de luz blanca) con una Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos (DFFF) entre 45-50 μmol m⁻² s⁻¹ y fotoperiodo de 16 horas luz.

Según el manejo a los brotes *in vitro* se conformaron los siguientes tratamientos:

- T1 Decapitado (50%) del brote y corte a bisel (control)
- T2 Decapitado (50%) del brote y corte longitudinal del explante
- T3 Decapitado (50%) del brote y corte desde la parte basal hasta el centro del explante
- T4 Decapitado (75%) del brote y fraccionamiento de la parte basal
- T5 Decapitado (75%) del brote
- T6 Decapitado (75%) del brote y corte en la yema apical
- T7 Decapitado (75%) del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical

A los 25 días de cultivo se cuantificó el número de brotes formados por explante y se determinó la masa fresca (g).

Procesamiento estadístico

Se utilizó el Paquete Estadístico SPSS versión 23.0 del 2015 para Windows. En el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y la homogeneidad de varianzas se determinó por la prueba de Levene. Al no cumplirse los supuestos, para la comparación entre las medias se utilizó la prueba H de Kruskal-Wallis y para la comparación entre parejas de grupos la prueba U de Mann-Whitney. En todos los casos las diferencias significativas fueron establecidas para p<0.05. El experimento fue repetido dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De forma general, para todos los cultivares independiente de la especie de malanga, en los tratamientos 6 (Decapitado 75% del brote y corte en la yema apical) y 7 (Decapitado 75% del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema terminal) fue donde se alcanzaron los mejores resultados para las variables número de brotes por explante y masa fresca de estos. No se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos, pero sí con el resto. Los coeficientes de multiplicación en ambos tratamientos variaron desde 3.00 hasta 6.98 en dependencia del cultivar (Tabla 1).

Estos resultados pudieron deberse a la pérdida de la dominancia apical del brote con ambos tipos de manejo, lo que estimuló el desarrollo de yemas axilares. Al respecto,

Ngomuo *et al.* (2014a) señalaron que con el decapitado casi total del brote apical existe una mayor área de superficie del mismo con el medio de cultivo, lo cual incrementa la toma de los nutrientes y resulta en un rápido crecimiento de los nuevos brotes. Los resultados del presente trabajo apoyan lo referido por dichos autores.

Además, los brotes decapitados pudieron tener una pérdida de la dominancia apical que estimuló el crecimiento de los brotes o yemas axilares según informaron Hussein (2012) y Ngomuo *et al.* (2014b). Al respecto, Acedo *et al.* (2018) refirieron que cuando los brotes apicales fueron decapitados, el metabolismo de la auxina y sus funciones sufrieron cambios que condujeron a la pérdida de la dominancia apical y la promoción de nuevas yemas y formación de brotes. Estos autores también informaron que lograron incrementar los coeficientes de multiplicación al realizar un decapitado basal de los brotes *in vitro* de cuatro cultivares filipinos de *C. esculenta*. No obstante,

señalaron que los coeficientes de multiplicación que se alcanzan están en dependencia del genotipo, con valores que variaron desde 3.8, 7.6 y 10.0.

De igual forma, en especies como el banano (*Musa spp.*) según informaron Ma y Shii (1972) y Ngomuo *et al.* (2014a), fue necesario la decapitación para aumentar la proliferación de los brotes *in vitro* en diferentes cultivares.

A pesar de la influencia conocida del genotipo en la respuesta de los explantes en el cultivo *in vitro*, los tratamientos T6 (Decapitado 75% del brote y corte en la yema apical) y T7 (Decapitado 75% del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical) tuvieron una respuesta superior independiente del cultivar y la especie (Figura 1). Esto demuestra la versatilidad del manejo realizado ya que según señalaron Anupama *et al.* (2018) cada cultivar necesita diferentes requerimientos de cultivo para expresar su potencial morfogénico.

Tabla 1. Efecto del manejo al brote *in vitro* sobre el coeficiente de multiplicación en distintos cultivares de malanga (*Xanthosoma spp.* y *Colocasia esculenta*) a los 25 días de cultivo.

Tto	<i>Xanthosoma spp.</i>						<i>C. esculenta</i>			
	'México-1'		'México-8'		'Amarilla Especial'		'Selección INIVIT'		'Camerún 14'	
	Masa fresca (g)	No. de brotes	Masa fresca (g)	No. de brotes	Masa fresca (g)	No. de brotes	Masa fresca (g)	No. de brotes	Masa fresca (g)	No. de brotes
T1	2.42b	0.35c	1.44b	0.34b	1.81	0.45 c	2.60c	0.59c	1.60b	0.31b
T2	3.42b	0.47c	2.37b	0.37b	2.30 b	0.56 c	2.33c	0.57c	2.00b	0.55b
T3	2.60b	0.30c	1.44b	0.36b	2.00b	0.30 c	1.86d	0.74c	1.00b	0.24b
T4	2.30b	0.33c	1.20b	0.35b	1.62 b	0.45 c	2.40c	0.69c	1.80b	0.49b
T5	4.55b	1.49b	2.25b	0.59b	7.90b	3.81b	6.63b	1.31b	2.50b	0.89b
T6	7.50a	3.00a	6.55a	3.33a	18.80 a	6.96a	8.90a	3.33a	7.50a	3.67a
T7	9.90a	4.44a	10.00a	4.73a	15.50 a	6.70a	9.50a	4.46a	9.78a	4.72a

T1 Decapitado (50%) del brote y corte a bisel (control), T2 Decapitado (50%) del brote y corte longitudinal del explante, T3 Decapitado (50%) del brote y corte desde la parte basal hasta el centro del explante, T4 Decapitado (75%) del brote y fraccionamiento de la parte basal, T5 Decapitado (75%) del brote, T6 Decapitado (75%) del brote y corte en la yema apical, T7 Decapitado (75%) del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical. Medias con letras no comunes en una misma columna indican diferencias significativas entre los rangos medios según las pruebas H de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney para $p < 0.05$ ($n = 100$).

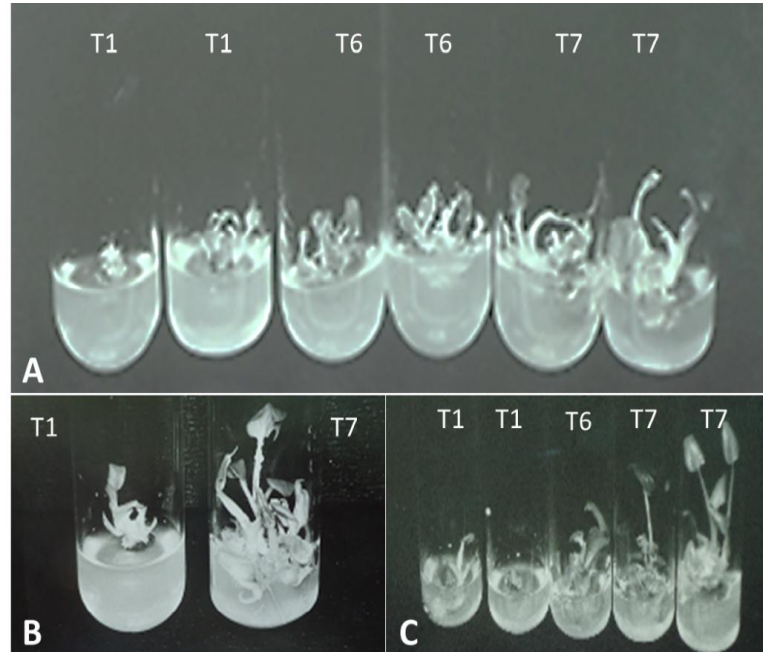


Figura 1. Efecto del manejo al brote *in vitro* en la multiplicación de diferentes cultivares de malanga [*X. sagittifolium* (L.) Schott.] a los 25 días de cultivo. (A) Cultivar 'México 1'. (B) Cultivar 'México 8'. (C) Cultivar 'Selección INIVIT'. T1 Decapitado (50%) del brote y corte a bisel. T6 Decapitado (75%) del brote y corte en la yema apical. T7 Decapitado (75%) del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical.

CONCLUSIONES

Es posible aumentar el coeficiente de multiplicación y la masa fresca en los brotes *in vitro* de malanga utilizando otras formas de corte de los explantes diferentes a las tradicionales tales como el decapitado (75%) del brote y corte de la yema apical y decapitado (75%) del brote, corte longitudinal y a bisel de la yema apical.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Acedo VZ, Damasco OP, Laurena AC, Sta Cruz PC, Namuco LO, Lalusin AG (2018) Shoot tip splitting for rapid micropropagation of Philippine taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott]. *International Journal of Advance Agricultural Research* 6: 38-46
- Anupama N, Tejavathi D H, Devaraj V R (2018) *In vitro* regeneration of cultivars of *Colocasia esculenta* (L.) Schott.. *Int J Pure App Biosci* 6(1): 920-926; doi: 10.18782/2320-7051.6101
- Archibald K (2005) Annual Report Caribbean Agricultural Research and Development Institute. CARDI, Trinidad and Tobago
- Basail MP, Medero VV, Santos AP, Torres YN, Robaina AJ, López JT, Rayas AC, Beovides YG, Rodríguez DG, Gutiérrez YS (2017) Influencia del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de *Xanthosoma*, cvs 'INIVIT Mx-2007' y 'México-8'. *Rev Agricultura Tropical* 3(1): 31-37
- Chien-Ying K, Ji-Ping K, Donald R (2008) *In vitro* micropropagation of white dasheen (*Colocassia esculenta*). *Afr J Biotechnol* 7(1): 41-43
- FAOSTAT (2018) Crop statistics. FAO Corporate Statistical Database. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/>. Consultado 14/08/18
- Gálvez D, Cabrera M, Beovides Y, Robaina A, Rodríguez S, Rodríguez D (2013) Influencia de reguladores del crecimiento y el estado físico del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de *Colocasia esculenta* clon 'INIVIT MC2001'. *Biotecnología Vegetal* 13(4): 225-229

- González J E (2005) Diagnóstico de enfermedades virales pertenecientes al género de los potivirus en los genotipos de ñame 'Pacala Duclos' (*Dioscorea alata* L.) y Ñame de Guinea (*Dioscorea rotundata* Poir.), aplicación de la corriente eléctrica al saneamiento. Tesis de Maestría, Instituto de Biotecnología de las Plantas Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas, Santa Clara, Cuba
- Hussein N (2012) Effects of nutrient media constituents on growth and development of banana (*Musa* spp.) shoot tips cultured *in vitro*. Afr J Biotechnol 11: 9001-9006
- Jiménez EG, de Feria M (2005) Empleo de Biorreactores para la Propagación Masiva. En: Pérez JN (Ed). Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología, pp. 207-222. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara
- Ma SS, Shii CT (1972) *In vitro* formation of adventitious buds in banana shoot apex following decapitation. Journal of Chinese Society of Horticultural Science 18(3): 135-142
- MINAG (2018) Informe al balance nacional de raíces y tubérculos. Ministerio de la Agricultura, La Habana
- Medero VV, Basail MP, Moreno OR, Santos AP, Rayas AC, López JT, Beovides YG, Rodríguez SM, Maza NE, Caballero WA, Gutiérrez YS, Rodríguez DG, Pons CP, Rodríguez DP, Medero MR (2016) Empleo de la biotecnología para la producción de semilla categorizada en malanga. Rev Agricultura Tropical 2(1): 52-60
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497
- Ngomuo M, Mneney E, Ndakidemi P (2014a) The effect of bud splitting on suppression of apical dominance and inducing multiple buds development in banana shoot tip cultures of cv 'Yangambi' (AAA) in Tanzania. Am J Exp Agric 4(12): 1853-1860
- Ngomuo M, Mneney E, Ndakidemi P A (2014b) The *in vitro* propagation techniques for producing banana using shoot tip cultures. Am J Plant Sci 5: 1614-1622
- Rodríguez S, Portieles M, Ruiz L, García M, Folgueras M, Pérez RE, Albert J (2010) Taro (*Colocasia esculenta*) and tannia (*Xanthosoma sagittifolium*) crops in the Republic of Cuba. En: Rao R, Matthews P, Eyzaguirre P, Hunter D (eds). Global Diversity of Taro: Ethnobotany and Conservation, pp. 137-142. Bioersity International, Roma; ISBN: 978-92-9043-867-0
- Sama AE, Hughes HG, Abbas MS, Shahba MA (2012) An efücient *in vitro* propagation protocol of cocoyam [*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott]. The Scientiüc World Journal 2012: 1-10; doi:10.1100/2012/346595
- Santos A, López J, Basail M, Gutiérrez Y, Rayas A, Medero V, Rodríguez D, Rodríguez D, Beovides Y, Reinaldo D, Bauta M (2017) Efecto de 6-BAP y AIA en el establecimiento *in vitro* de meristemos de *Colocasia esculenta* (L.) Schott cv. 'INIVIT MC 2012'. Biotecnología Vegetal 17(1): 67 – 70

Recibido: 04-10-2017

Aceptado: 21-03-2018