

INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE *Xanthosoma*, cvs. 'INIVIT MX-2007' Y 'MÉXICO-8'

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

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo CP: 53000, Villa Clara, Cuba.

*Autora para correspondencia: sit.biotec@inivit.cu

RESUMEN

El género de malanga *Xanthosoma* 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. La producción del material de plantación por métodos biotecnológicos puede contribuir a cumplir con la demanda de explantes por lo que se definió como objetivo determinar la concentración de los reguladores del crecimiento, 6-Bencilaminopurina (6-BAP) y Ácido indolacético (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 estos clones en las Biofábricas. En ambos cultivares se utilizó como control 3,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP (6-Bencilaminopurina) y 1,0 mg.L⁻¹ de Ácido Indolacético (AIA). 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 1,5 mg.L⁻¹ de AIA aumentó 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 THE CULTURE MEDIUM FOR *IN VITRO* MULTIPLICATION OF *Xanthosoma*, cvs. 'INIVIT MX-2007' AND 'MEXICO-8'

ABSTRACT

Gender of taro *Xanthosoma* 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. Production of planting material for biotechnological methods can help to meet the demand of explants for what was defined as objective to determine the concentration of growth regulators, 6-Benzilaminopurine (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 it was used as a control 2,0 mg.L⁻¹ the 6-Benzylaminopurine (6-BAP) and indoleacetic acid 1,0 mg.L⁻¹ indoleacetic acid (IAA). When evaluations after 15 days of culture were performed it was determined that by

using the culture medium with 3,0 mg.L⁻¹ of 6-BAP and 1,5 mg.L⁻¹ IAA the multiplication coefficient was increased 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.

INTRODUCCIÓN

Las malangas *Xanthosoma* han formado parte de la dieta del cubano por sus características organolépticas y demostrada digestibilidad (Rodríguez *et al.*, 2009).

En Cuba, durante el 2010 se obtuvo una producción de 199 400 toneladas (FAO, 2011) 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.

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

El empleo de los métodos biotecnológicos constituye una herramienta auxiliar muy importante para la multiplicación de material libre de enfermedades (González, 2005). Esta vía ha servido para introducir rápidamente en el mercado nuevas variedades de plantas obtenidas mediante selección, mutación, programas de mejora y manipulación genética (Cañal, 1999; Archibald, 2003). 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 patógenos y producción de semillas (Archibald, 2005).

Varios cultivares de malanga han sido propagados usando la técnica del cultivo *in vitro* vía organogénesis directa; a través de meristemos o yemas axilares. Siendo este el sistema de regeneración en el cual se reportan los menores índices de variación genética (Chien-Ying *et al.*, 2008); y el método más confiable para lograr un proceso de proliferación repetible y libre de agentes contaminantes (Jiménez y De Fera, 2005). Sin embargo, los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' (*Xanthosoma*), con alto potencial productivo, obtenidos por el programa de mejoramiento genético del INIVIT, han presentado bajos coeficientes de multiplicación en la multiplicación *in vitro*.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto el presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la concentración de los reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) en el medio de cultivo para incrementar los coeficientes de multiplicación *in vitro* en los cultivares de *Xanthosoma* 'INIVIT MX-2007' y 'México-8'.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT); ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba, durante el período comprendido entre noviembre 2014 a Julio del 2015.

Procedimientos generales de la investigación

Medios de cultivo

Para el desarrollo del experimento, se empleó como medio de cultivo basal, el compuesto por las sales inorgánicas y vitaminas propuestas (Murashige y Skoog, 1962)

(MS). El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5,7 con NaOH 0,5 mol.L⁻¹ y/o HCl 0,5 mol.L⁻¹ antes de la esterilización en autoclave.

Los medios de cultivo y sistemas de cultivos que se emplearon en el experimento 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 de medio de cultivo a esterilizar, según información técnica de la compañía (SIGMA, 1991).

Material vegetal:

- Plantas del cultivar de malanga 'INIVIT MX-2007' (*Xanthosoma*) con hojas sagitadas de color verde al igual que el pecíolo y la vaina. Cormos y cormelos de forma alargada y cilíndrica, con yemas de color rosáceo, masa blanca. Ciclo de cosecha a partir de los 10 meses.
- Plantas del cultivar de malanga 'México-8' (*Xanthosoma*), con hojas de color verde con nervaduras verde claro. Pecíolo verde con aristas y base de color rosado con presencia de cera. Cormos y cormelos de color castaño oscuro exteriormente, masa de color rosado en los cormos y cormelos. Yemas de color rosado tanto en cormos como en cormelos. Ciclo entre 12 y 14 meses.

Efecto de diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) en la multiplicación de los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' (*Xanthosoma*)

Se utilizó como control el medio de cultivo propuesto por (García *et al.*, 1999). Los diferentes medios de cultivo se conformaron a partir de la combinación de los reguladores del crecimiento 6-BAP y AIA (Tabla 1), según resultados obtenidos en otros cultivares de malanga.

Tabla 1. Combinación de los reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) sobre la multiplicación de los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' (*Xanthosoma*).

Tratamientos	6-BAP (mg.L ⁻¹)	AIA (mg.L ⁻¹)
1		0,0
2		0,5
3 (control)	2,0	1,0
4		1,5
5		0,0
6		0,5
7	3,0	1,0
8		1,5
9		0,0
10		0,5
11	4,0	1,0
12		1,5

En esta fase se realizaron los subcultivos cada 15 días.

Procesamiento estadístico

Con los criterios de estadística descriptiva se realizaron las tablas que expresan los resultados procesados con estadística inferencial paramétrica (análisis de varianza de clasificación simple). La comparación múltiple de media se realizó según Tukey cuando

se encontró homogeneidad de varianza, (Lerch, 1977). Se utilizó el paquete estadístico MSTAT-C de la Universidad de Michigan (Guzmán y Castaño, 2002).

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Efecto de diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) en la multiplicación de los cultivares de malanga 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' (*Xanthosoma*).

A partir de los resultados obtenidos el tratamiento ocho incrementó el coeficiente de multiplicación de 1,02-2,51 obteniendo la mejor respuesta en cuanto a las variables estudiadas en el cultivar de malanga 'INIVIT MX-2007, Tabla 2, no siendo así en el cultivar 'México-8' donde el mejor resultado se obtuvo con el tratamiento seis aumentando el coeficiente de multiplicación de 1,25-2,70, Tabla 3.

Tabla 2. Efecto de la combinación de los reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) en la multiplicación del cultivar de malanga 'INIVITMX-2007', (*Xanthosoma*).

Tratamientos	Coeficiente de Multiplicación	Diámetro del explante
1	1,10 d	0,32 b
2	1,17 d	0,25 c
3 (control)	1,02 e	0,23 c
4	1,98 c	0,42 b
5	1,14 d	0,58 b
6	1,98 c	0,61 b
7	1,99 c	0,56 b
8	2,51 a	0,73 a
9	2,22 b	0,54 b
10	1,98 c	0,39 b
11	1,99 c	0,44 b
12	1,28 d	0,32 b
ES ±	0,16*	0,09 *

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para $p < 0,05$ según prueba de Tukey.

El 6-BAP ha sido hasta el momento, la citoquinina más empleada y de mayor efectividad para la micropropagación de varias especies vegetales de interés económico como la Teca (*Tectona Grandis Linn. F*) y el guayabo (*Psidium guajava L.*), (Daquinta *et al.*, 2000 y Vilchez, 2001).

El incremento en el coeficiente de multiplicación se debe principalmente a los niveles de citoquininas (3,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP con 0,5 mg.L⁻¹; y 1,0 mg.L⁻¹ de AIA). Los patrones del metabolismo del 6-BAP y AIA varían considerablemente entre especies. Este regulador se acumula solo o en forma de sus conjugadas, y por lo tanto estimula la formación de brotes (Jiménez, 1997).

Tabla 3. Efecto de la combinación de los reguladores del crecimiento (6-BAP y AIA) en la multiplicación del cultivar de malanga 'México-8' (*Xanthosoma*).

Tratamientos	Coefficiente de Multiplicación	Diámetro del explante
1	2,13 c	0,54 c
2	2,17 c	0,47 c
3 (control)	1,25 e	0,46 c
4	2,00 c	0,63 b
5	1,14 e	0,53 c
6	2,70 a	0,84 a
7	2,16 c	0,69 b
8	2,03 c	0,71 b
9	2,45 b	0,56 c
10	1,93 d	0,49 c
11	2,00 c	0,65 b
12	1,06 e	0,43 c
ES ±	0,11*	0,03 *

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para $p < 0,05$ según prueba de Tukey.

En los protocolos de propagación los explantes se mantienen con los reguladores del crecimiento durante todo el subcultivo, sin embargo, distintos autores han llegado a la conclusión de que la absorción de estas sustancias en la fase de multiplicación se produce mayoritariamente en las primeras horas de cultivo (Moncaleán *et al.*, 1999). Lo que condiciona totalmente la respuesta morfogénica de los cultivos es la alteración del balance endógeno de los reguladores del crecimiento (Dantas *et al.*, 1997).

Santos *et al.* (2017) incrementaron el crecimiento de meristemos de malanga en fase de establecimiento *in vitro* en el cultivar 'INIVIT MC-2012' con 0,5 mg.L⁻¹ de 6-BAP y 0,05 mg.L⁻¹ de AIA en agitación.

García *et al.* (2015) al utilizar 4 mg.L⁻¹ de 6-BAP en el medio de cultivo para la multiplicación *in vitro* de *Spathiphyllum wallisii* Regel obteniendo coeficientes de multiplicación de 7,2 en 21 días de cultivo.

Astudillo (2013) obtuvo el mejor resultado al utilizar 3 mg.L⁻¹ de 6-BAP en el cultivar de malanga 'Coco' en la etapa de multiplicación a partir del segundo subcultivo.

Estos resultados coinciden con Vilchez *et al.* (2009) quienes obtuvieron los mejores resultados al suplementar 3 mg.L⁻¹ de BAP en todos los subcultivos en la etapa de multiplicación.

Los explantes propagados con el tratamiento siete en el cultivar de malanga 'INIVIT MX-2007' mostraron características superiores a las producidas con el resto de los demás tratamientos, obteniéndose un coeficiente de multiplicación de 2,51 (Figura 1) mientras en el cultivar de malanga 'México-8' con el tratamiento seis se obtuvo un coeficiente de multiplicación de 2,70.



a) Plantas *in vitro* del cultivar
'INIVIT MX-2007'



b) Plantas *in vitro* del cultivar
'México-8'

Figura 1. Plantas *in vitro* de malanga *Xanthosoma*, cvs 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' multiplicadas con 6-BAP y AIA.

CONCLUSIONES

Se logró incrementar el coeficiente de multiplicación en el cultivo de la malanga *Xanthosoma*, cvs 'INIVIT MX-2007' y 'México-8' utilizando diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA.

BIBLIOGRAFÍA

- ARCHIBALD, K. 2003. Caribbean Agricultural Research and Development Institute (CARDI). Ann. Rep, p. 10-12.
- ARCHIBALD, K. 2005. Caribbean Agricultural Research and Development Institute (CARDI). Ann. Rep, pp. 6-11.
- ASTUDILLO, J. 2013. Establecimiento y multiplicación *in vitro* de malanga coco (*Colocasia esculenta* L. Schott). Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras, pp. 1-17.
- CAÑAL, M, 1999. Fisiología del cultivo *in vitro*. En: Biotecnología vegetal: Libro de reportes cortos del 5^{to} coloquio internacional de Biotecnología vegetal, IBP, Santa Clara, Cuba, p. 14-22.
- CHIEN, Y.; K. JPING y R. DONALD. 2008. *In vitro* micropropagation of white dasheen (*Colocassia esculenta*). *African Journal of Biotechnology*, 7(1): 41-43.
- DANTAS, K.; M. CAÑAL; M. CENTENO; I. FEITO y B. FERNÁNDEZ. 1997. Endogenous plant growth regulators in carnation Tissue Cultures Under different condition of ventilation. *Plant Cell Reports*, 22: 169-174.
- DAQUINTA, M.; L. RAMOS y Y. LEZCANO. 2000. Algunos elementos en la micropropagación de la Teca. *Biotecnología Vegetal*, 1 (2): 39-44.
- FAO, FAOSTAT. 2011. Statistics division. <http://faostat.fao.org/site/526/default.aspx>.
- GARCÍA, M.; V. MEDEROS; S. RODRÍGUEZ; J. LÓPEZ; J. VENTURA; M. CABRERA; R. HERNÁNDEZ; J. GONZÁLEZ; D. BERMÚDEZ; D. GÁLVEZ; V. GUTIÉRREZ y J. GÁLVEZ. 1999. Generalización de la micropropagación de la malanga

- (*Xanthosoma* spp.) en Cuba. En: 5^{to} Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal, p. 167-169.
- GARCÍA, L.; M. PÉREZ Y D. TORRES. 2015. Efecto de 6-BAP en la multiplicación *in vitro* de *Spathiphyllum wallisii* Regel. *Biotecnología Vegetal*, 15(1): 59-62.
- GONZÁLEZ, J. 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 presentada en opción del título de Master en Ciencias. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba, 57 p.
- GUZMÁN, O y CASTAÑO, J. 2002. Reconocimiento de nemátodos fitopatógenos en plátanos 'Dominico hartón' (*Musa* AAB, Simmonds), 'África', 'FHIA 20' y 'FHIA 21' en Colombia. *InfoMusa*, 11 (2): 34-35.
- JIMÉNEZ, G. 1997. Curso teórico-técnico de propagación masiva de plantas. Santa Clara, p. 25-30.
- JIMÉNEZ, E y DE FERIA, M. 2005. Empleo de Biorreactores para la Propagación Masiva. En: Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las plantas, Universidad Central de Las Villas, Pérez, J. N. (Ed.), Santa Clara, Cuba, p. 207-222.
- MONCALEÁN, P.; J. CAÑAL; I. FEITO y A. RODRÍGUEZ. 1999. Cytokinins and mineral nutrition in shorts of Actinide cultured *in vitro*. *J. Plants Physiol*, 2: 12-14.
- MURASHIGE, T Y SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, pp. 473-497.
- LERCH, G 1977. La experimentación en las Ciencias Biológicas y Agrícolas. Ed. Científica y Técnica. La Habana. 288p.
- RODRÍGUEZ, A.; A. RODRÍGUEZ Y S. QUINTERO. 2009. Caracterización de germoplasma y mejoramiento participativo en especies de raíces y tubérculos alimenticios tropicales y en musáceas. Simposio Internacional y Taller de Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe. Ecuador, Quito. 31 Agost- 8 Sept. CD-R Prog. PRGA. <http://www.brga.program.org/brga>.
- RODRÍGUEZ, S.; M. GARCÍA; V. MEDEROS; S. RODRÍGUEZ; J. LÓPEZ y J. VENTURA. 2010. El cultivo de la malanga isleña (*Colocasia esculenta*) en Cuba. Conferencia Consejo Técnico Asesor, MINIAG. INIVIT, 15p.
- SANTOS, A.; J. LÓPEZ; M. BASAIL; Y. GUTIÉRREZ; A. RAYAS; V. MEDERO; D. RODRÍGUEZ; D. RODRÍGUEZ; Y. BEOVIDES; D. REINALDO y M. BAUTA. 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.
- SIGMA. 1991. Catalogue. Sigma Chemical Company. EUA.
- VILCHEZ, J. 2001. Embriogénesis somática y regeneración de plantas de guayabo (*Psidium guajavo* L.) cv. Enana Roja Cubana EEA. Tesis de Maestría. Instituto de Biotecnología de las Plantas, 60p.
- VILCHEZ, J.; Y. RIVAS; N. ALBANY; M. MOLINA y L. MARTÍNEZ. 2009. Efecto de la 6-bencilaminopurina sobre la multiplicación *in vitro* de ocumo criollo (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 26 (2): 212-222.