

EFFECTO DEL MANITOL Y EL NITRATO DE PLATA EN LA CONSERVACIÓN *IN VITRO* DE LA MALANGA (*XANTHOSOMA* SPP.)

Aymé Rayas, Manuel Cabrera, Jorge López, Víctor Medero, Yoel Beovides, Germán Rodríguez

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apdo. 6, Santo Domingo, Villa Clara, CP 53000. email: arayas@inivit.cu

Introducción

La malanga, *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott, es una planta perenne de los trópicos y zonas húmedas perteneciente a la familia de las Aráceas y consumida por el hombre desde tiempos remotos por el alto valor nutritivo de sus cormos. Comúnmente se reproducen de forma vegetativa y una de las principales limitantes del cultivo es la carencia de semilla de alta calidad. (Matehus *et al.*, 2006)

El mantenimiento en campo de los Bancos de Germoplasma resulta muy costoso, además de los riesgos a que se exponen, a tal efecto el cultivo de tejidos constituye una solución a estos problemas.

En el caso de los cultivos de propagación vegetativa es conveniente utilizar una combinación de técnicas de almacenamiento en lugar de depender de una sola. Entre las técnicas más utilizadas figuran los bancos de genes conservados en el campo, los de genes en semillas, los de genes *in vitro* y la crioconservación. (Roca, 1994)

Las técnicas modernas de producción de variedades mejoradas altamente homogéneas han provocado la reducción de la variabilidad genética de las especies cultivadas, ocasionando una erosión genética, es decir, la pérdida de la plasticidad en la respuesta del genoma frente a las alteraciones ambientales, siendo necesario recurrir a las fuentes genéticas originales de la variabilidad, las que en consecuencia se deben conservar adecuadamente.

En el caso de un gran número de plantas cuyo sistema de propagación usual es el asexual o vegetativo, de forma tradicional se establecen plantaciones en el campo, lo cual redundaría no solamente en un costo elevado, sino que además se presenta el riesgo de perder totalmente el material vegetal que se desea preservar.

Conociendo estas razones existe una alternativa viable, y más satisfactoria que las técnicas tradicionales para especies propagadas vegetativamente, que es la preservación de germoplasma *in vitro*.

Mora y col. (1988), plantean que al utilizar tratamiento con Manitol al 0.2 molar, no causó anomalías en los cultivos, por otra parte Krikorian y Cronauer (1983), reportaron que en el caso de *Musa* se puede mantener conservados *in vitro* bajo condiciones físicas o mediante modificaciones en los medios de cultivo, siendo necesario conservar el germoplasma con niveles mínimos de crecimiento.

El cultivo *in vitro* ofrece nuevas alternativas para el mejoramiento de la productividad y la producción de material de siembra sano en esta especie (Salazar, 1991; García *et al.*, 1999 y Montaldo *et al.*, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las condiciones óptimas para la conservación en crecimiento mínimo *in vitro* de germoplasma de malanga (*Xanthosoma* spp.)

Materiales y métodos

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Como material vegetal se utilizó el clon de Malanga *Xanthosoma* 'INIVIT MX – 2008'. Los cormos de malanga fueron sometidos a desinfección superficial con detergente, alcohol (70%) e Hipoclorito de Sodio (2,5%). Para el establecimiento *in vitro*, los meristemas fueron colocados en medio MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con 3% sacarosa y concentraciones hormonales de 0,1 mg.L⁻¹ de 6-bencil aminopurina (BAP) por 21 días.

Para la proliferación de brotes se colocaron los ápices establecidos en medio de cultivo que contiene sales y vitaminas de MS, 3% sacarosa, 3 mg.L⁻¹ de BAP, 1 mg. L⁻¹ de Acido Indolacético (AIA), 0,1g.L⁻¹ de Myoinisitol y solidificado con agar. Las condiciones de crecimiento durante todo el proceso fueron 26±2°C y fotoperíodo de 16:8 (Oscuridad:luz).

Para la conservación en medio de cultivo de crecimiento mínimo se utilizó el medio basal MS y se estudiaron 15 tratamientos que combinaron concentraciones de Manitol (regulador osmótico) (1,5; 3 y 4%) y Nitrato de plata (inhibidor de etileno) (0, 2, 4, 8, 10 mg.L⁻¹) como se muestra en la tabla No. 1.

Tabla No. 1. Combinaciones de Manitol y Nitrato de plata utilizadas para determinar las condiciones de crecimiento mínimo.

Tratamiento	Concentración de manitol (%)	Concentración de AgNO ₃ (mg.L ⁻¹)
I	1,5	0
II	1,5	2
III	1,5	4
IV	1,5	8
V	1,5	10
VI	3	0
VII	3	2
VIII	3	4
IX	3	8
X	3	10
XI	4	0
XII	4	2
XIII	4	4
XIV	4	8
XV	4	10

A los 9 meses de cultivo se evaluaron: altura de la planta, número de brotes, número de hojas activas, número de raíces y número de hojas muertas y los brotes fueron subcultivados a medio de proliferación de malanga para verificar su regeneración en plantas normales. Los resultados obtenidos fueron analizados por mediante análisis de varianza de clasificación simple (completamente al azar) y la comparación multiple de medias según Tukey (Lerch, 1977), en el caso de las variables continuas según Dunnett-C

Resultados y discusión

Al evaluar los explantes conservados durante nueve meses pudimos apreciar que se encontraban en muy buenas condiciones y existía poco crecimiento, los tratamiento con 4% de manitol (XI - XV) alcanzaron las menores alturas y los mayores números de brotes de las plantas formadas *in vitro* sin diferencias estadísticas entre ellos. Tabla 2.

Al combinarla con 4 mg.L⁻¹ de Nitrato de plata se apreció el mayor número de hojas activas y el menor de hojas secas lo que demuestra su efecto como inhibidor del etileno y coincide con los resultados obtenidos por Maffa *et al.* (2002) al estudiar medios de crecimiento mínimo en lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Sendt.).

Tabla No. 2. Respuesta de los explantes de malanga 'INIVIT MX – 2008' (*Xanthosoma* spp.) ante diferentes concentraciones de Manitol y Nitrato de plata.

Tratamientos	Variables evaluadas				
	Altura	No. Brotes	No. Raíces	No. hojas	Hojas secas
I. Man 1,5; AgNO ₃ 0	3,38 a	1,55 b	7,33 a	7,66 ab	6,33 a
II. Man 1,5; AgNO ₃ 2	2,85 ab	1,88 b	9,33 a	6,88 b	7,11 a
III. Man 1,5; AgNO ₃ 4	2,37 abc	2,25 b	5,0 abc	6,75 b	4,50 abc
IV. Man 1,5; AgNO ₃ 8	2,93 ab	2,40 b	10,90 a	6,50 b	7,90 a
V. Man 1,5; AgNO ₃ 10	3,03 ab	2,70 b	9,80 a	5,70 b	9,50 a
VI. Man 3; AgNO ₃ 0	1,91 bcd	7,71 ab	0,57 bc	12,00 ab	5,57 abc
VII. Man 3; AgNO ₃ 2	1,55 cd	5,40 ab	5,10 ab	10,80 ab	5,10 abc
VIII. Man 3; AgNO ₃ 4	1,80 cde	6,42 ab	7,85 a	11,57 ab	5,85 ab
IX. Man 3; AgNO ₃ 8	1,37 cde	7,75 ab	10,50 a	16,12 a	4,25 abc
X. Man 3; AgNO ₃ 10	1,66 cde	6,00 ab	9,33 a	10,22 ab	5,00 abc
XI. Man 4; AgNO ₃ 0	1,25 cde	6,25 ab	3,50 abc	13,50 ab	4,25 abc
XII. Man 4; AgNO ₃ 2	1,12 de	7,75 ab	1,75 abc	9,70 ab	0,50 bc
XIII. Man 4; AgNO₃ 4	1,43 cde	9,00 a	2,25 abc	14,50 ab	1,75 abc
XIV. Man 4; AgNO ₃ 8	1,25 cde	3,00 ab	2,00 abc	9,00 ab	1,50 abc
XV. Man 4; AgNO ₃ 10	0,70 e	5,50 ab	0,00 c	7,00 ab	0,00 c
ES ±	0,20**	0,93**	1,20**	1,63**	1,09**
CV(%)	24,95	51,37	47,55	44,40	53,61

Al aumentar la concentración de manitol disminuye la altura, aumenta el número de brotes, disminuye el número de raíces, aumenta el número de hojas activas y disminuye la muerte de las hojas. Las plantas propagadas a partir de estos medios se recuperaron exitosamente. La presencia de la mayor concentración de manitol en el medio de cultivo pudo haber influido en estos resultados ya que otros autores han reportado que incrementa la supervivencia del material conservado durante el proceso de la recuperación. Rayas *et al.* (2008) en la conservación de *D. alata*, obtuvieron resultados similares, lo que demuestra la efectividad de estos compuestos para lo que concuerda con Espinosa *et al.* (1998) sobre la importancia de la

supervivencia y recuperación de los materiales mantenidos *in vitro* bajo condiciones de crecimiento lento. Mesa *et al.* (1995) caracterizaron la recuperación de órganos y plantas completas como un factor determinante para la micropropagación eficiente y/o en la conservación *in vitro*. Acheampong (1982), logró conservar la malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) hasta un año a una temperatura de 10° C.

La osmolaridad del medio de cultivo puede ser disminuida sin causar problemas de toxicidad por la adición de Manitol a concentraciones alrededor de 0,2 Mol, causando considerables reducciones del crecimiento e incrementando la longevidad.

Conclusiones y recomendaciones

1. Es posible conservar *in vitro* los recursos genéticos de malanga *Xanthosoma*, durante más de 10 meses, en un medio de cultivo compuesto por sales y vitaminas MS y suplementado con 4% de manitol y 4 mg.L⁻¹ de Nitrato de plata.
2. Se recomienda utilizar este medio de cultivo en el resto de las accesiones de malanga *Xanthosoma* y estudiar su comportamiento.

Bibliografía

- García, M, S Rodríguez, V Medero, J López, J Ventura, M Cabrera, A Rayas y DL González. Investigación Participativa en Fitomejoramiento y Producción de Semilla de Aráceas (*Xanthosoma* y *Colocasia*) aplicando la Biotecnología. In: Simposio Internacional y Talleres sobre Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe. 1999. <http://www.prgaprogram.org/cds/fmp/NADINE-PDF/García.pdf> (Página consultada en Octubre, 2010).
- Lerch, G. La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. Ed. Científico Técnica. Pág. 302. 1977.
- Mafla, Graciela, JC Roa y DG Debouck. Efecto del ancymidol y el nitrato de plata sobre el crecimiento de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Sendt.) conservados *in vitro*. Póster presentado en el VIII Congreso Latinoamericano de Botánica y II Congreso Colombiano de Botánica, Cartagena, Colombia, 13-18 octubre 2002.
- Matehus J, G Romay y Ma. A. Santana. Multiplicación *in vitro* de ocumo y taro. *Agronomía Tropical* 56(4): 607-613. 2006.
- Montaldo, A, J Mantilla, C Zambrano y P Zárraga. Las aráceas comestibles: Ocumo y Taro. Luis Fuenmayor Toro, Editor. UCV. Ediciones OPSU. Primera Edición. Caracas, Venezuela. 1-250 pp. 2004.
- Murashige, T and F Skoog. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-496. 1962.
- Rayas, A; M Cabrera, V Gutiérrez, M García, J López, S Rodríguez, M Milián, V Medero, M Basail, A Santos, Y Torres, M Bauta, H. Toledo. Efecto del manitol sobre la conservación *in vitro* de germoplasma de *Dioscorea alata*. XI Encuentro de Botánica "Johannes Bisse In Memoriam" a celebrarse en nuestro centro del 14 al 17 de noviembre del año 2008. CD memorias, ISBN. 978-959-18-0395-5. 2008.
- Salazar, S. Micropropagación de aráceas comestibles. En: Roca, W y L. Mroginski (eds). Cultivo de tejidos en la Agricultura. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p. 469-480. 1991.