

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACION AGRONOMICAS

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS MEDIOS BASALES CON CINCO COMBINACIONES DE
AUXINAS Y CITOCININAS PARA LA INDUCCIÓN DE BROTES *in Vitro* Y ENRAIZAMIENTO
DE BROTES, DE MALANGA (*Colocasia esculenta*) Schott.**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

EDUARDO TARACENA ZAMORA

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

Guatemala Octubre 2004

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
.FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

Dr. M.V. LUIS ALFONSO LEAL MONTERROSOS

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Dr.	ARIEL ABDERRAMAN ORTIZ LOPEZ
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr.	ALFREDO ITZEP MANUEL
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr.	MANUEL DE JESUS MARTÍNEZ
VOCAL TERCERO	Ing. Agr.	ERBERTO RAÚL ALFARO ORTÍZ
VOCAL CUARTO	MEP	JUVENCIO CHOM CANIL
VOCAL QUINTO	MEP	BAYRON GEOVANY GONZÁLEZ CHAVAJAY
SECRETARIO	Ing. Agr.	PEDRO PELAEZ REYES

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS

Por ser toda fuente de iluminación y conocimiento

MIS PADRES

Carlos Eduardo Taracena Díaz
Ada Indira Zamora Almengor de Taracena

MIS ABUELOS

Lic. Eduardo Taracena de la Cerda (Q.E.P.D.)
Elizabeth Díaz-Sol de Taracena
Ing. Pedro Zamora González (Q.E.P.D.)
Estela Almengor de Zamora (Q.E.P.D.)

MIS HERMANOS

José Andrés; Gabriel Ricardo, José Manuel

MIS AMIGOS

Olger Guillermo Pop, Leida González, Ostwald Aquino, Jenny Contreras, José Antonio Godoy, Cesar E. Villatoro, Dr. Carlos Gularte, Clara Vides, Clarisa Gularte, Carlos Gularte, Lili Palomo, Héctor Juárez, Mario Molina, Verónica Vides.

ANA RAQUEL

Por tu apoyo y cariño.

TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS

FACULTAD DE AGRONOMIA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

AGRADECIMIENTOS

A:

Mis asesores Ing. Agr. Domingo Amador e Ing. Agr. Mack Milán Cruz. Por su valiosa y acertada orientación en el desarrollo de esta investigación.

Al laboratorio de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad San Carlos de Guatemala por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

Guatemala, Septiembre 2004

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía

Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores representantes:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS MEDIOS BASALES CON CINCO
COMBINACIONES DE AUXINAS Y CITOCININAS PARA LA INDUCCIÓN DE
BROTOS *in Vitro* Y ENRAIZAMIENTO DE BROTOS, DE MALANGA (*Colocasia
esculenta*) Schott.

Como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Atentamente

Eduardo Taracena Zamora

INDICE GENERAL

INDICE DE CUADROS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii

	Página.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	2
3. MARCO TEORICO.....	3
3.1. Marco Conceptual.....	3
3.1.1. Características Botánicas	3
3.1.2. Origen.....	4
3.1.3. Requerimientos.....	5
3.1.3.1.Clima y suelo	5
3.1.4. Ciclo reproductivo.....	5
3.1.5. Cultivares	5
3.1.6. Especies.....	5
3.1.7. Zonas de producción en Guatemala.....	6
3.1.8. Técnica de cultivo de tejidos.....	7
3.1.9. Establecimiento del cultivo de tejidos vegetales.....	7
3.1.10. Impacto del cultivo de tejidos.....	8
3.1.11. Asepsia.....	8
3.1.12. Ventajas el cultivo de tejidos.....	9
3.1.13. Desventajas del cultivo de tejidos	9
3.1.14. Usos del cultivo de tejidos	9
3.1.15. Calidad del material	9
3.1.16. Procesos del cultivo de tejidos.....	10
3.1.16.1. Cultivo de iniciación fase I.....	10
3.1.16.2. Subcultivo fase II.....	10
3.1.16.3. Enraizamiento fase III.....	10
3.1.17. Macronutrientes.....	11
3.1.18. Micronutrinetes.....	11
3.1.19. Vitaminas.....	12
3.1.20. Aminoácidos	12
3.1.21. Carbohidratos.....	13
3.1.22. Agua.....	13
3.1.23. Agentes solidificantes.....	13
3.1.24. Influencia de la temperatura.....	13
3.1.25. Micropropagación Masiva.....	14
3.1.26. Pasos de las micropropagación.....	14
3.1.26.1. Establecimiento del cultivo aséptico.....	14
3.1.26.2. Crecimiento del inoculo	14
3.1.26.3. Enraizamiento de os brotes y preparación para su trasplante.....	15
3.1.27. Factores que influyen en la micropropagación	15
3.1.28. Planta que dona el explante.....	16
3.1.29. El explante.....	16
3.1.30. Factores físico.....	16
3.1.31. Medio de cultivo.....	16

3.1.32. Fitoreguladores Hormonales.....	17
3.1.33. Generalidades de la fitohormonas.....	17
3.1.34. Fitoreguladores Auxinicos.....	18
3.1.34.1. Auxinas.....	18
3.1.34.1.1. Biosíntesis.....	18
3.1.34.1.2. Acción fundamental.....	19
3.1.34.1.3. Efectos característicos.....	19
3.1.35. Fitoreguladores citocinicos.....	19
3.1.35.1. Citocininas.....	20
3.1.35.1.1. Biosíntesis.....	20
3.1.35.1.2. Acción fundamental.....	20
3.1.35.1.3. Efectos característicos.....	20
3.1.36. Efectos de los reguladores del crecimiento.....	21
3.1.37. Propagación de yemas apicales y laterales.....	21
3.2. MARCO REFERENCIAL.....	22
3.2.1. Antecedentes sobre la propagación de la malanga utilizando la técnica del cultivo de tejidos.....	22
3.2.2. Estudios de los diferentes reguladores del crecimiento en la formación de cayos.....	23
3.2.3. Establecimiento y multiplicación in vitro de cuatro genotipos de Ñampi (<i>Colocasia esculenta</i> S) var antiquorum.....	24
3.2.4. Utilización a escala comercial.....	24
3.2.5. Utilización de la malanga.....	24
3.2.5.1. Usos.....	25
3.2.5.2. Alimentación animal.....	25
3.2.5.3. Alimentación Humana.....	26
3.2.5.4. Aspectos agroindustriales a pequeña escala.....	26
3.2.5.5. Importancia económica potencial y comercialización.....	26
3.2.5.6. Ventana de mercado.....	26
3.2.5.7. Formas de exportar.....	26
3.2.5.8. Tamaño apropiado para exportar.....	27
3.2.5.9. Países importadores	27
3.2.5.10. Países exportadores.....	27
4. Objetivos.....	28
5. Hipótesis	31
6. Metodología.....	32
6.1. Localización.....	32
6.2. Materiales y equipo.....	32
6.3. Manejo del experimento.....	33
6.3.1. Selección del material vegetal.....	33
6.3.2. Manejo de las plantas madre.....	33
6.3.3. Selección de yemas para el estudio.....	33
6.3.4. Preparación de medios de cultivo.....	33
6.3.5. Preparación de las soluciones madre.....	33
6.3.6. Medios de cultivo a evaluar.....	34
6.3.7. Desinfección.....	35
6.3.8. Disección.....	35
6.3.9. Transferencia.....	35
6.3.10. Preparación de explante.....	36
6.3.10.1. Desinfección previa.....	36

6.3.11. Siembra.....	36
6.3.12. Incubación.....	36
6.3.13. Establecimiento.....	36
6.3.14. Diseño experimental.....	37
6.3.15. Unidad experimental.....	37
6.3.16. Tratamientos.....	38
6.3.17. Aleatorización.....	38
6.3.18. Variables de respuesta.....	39
6.3.19. Análisis de la información.....	39
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
8. CONCLUSIONES	46
9. RECOMENDACIONES.....	48
10. BIBLIOGRAFÍA.....	49
11. ANEXOS.....	51

INDICE DE CUADROS

	Pagina
CUADRO 1. (Análisis de composición de cormos de malanga provenientes de oriente de África en grs. X 100grs. De porción comestible base seca).....	6
CUADRO 2. (Análisis de cormelos de malanga grs X 100 grs de porción de base humeda.....	6
CUADRO 3. (Interacción de reguladores del crecimiento).....	22
CUADRO 4. (Comparación entre la malanga y el maíz para alimentación animal).	25
CUADRO 5. (Forma de los tratamientos con las concentraciones en ppm de los reguladores del crecimiento).....	36
CUADRO 6. (combinación de los tratamientos donde A: dosis Auxinas y Citocininas y MS,MSS: medio de cultivo a utilizar).....	37
CUADRO 7 (Análisis de varianza de la variable número de brotes de malanga)....	38
CUADRO 8. (Análisis de varianza de la variable número de hojas por brote de malanga).....	39
CUADRO 9. (Análisis de varianza de la variable longitud por brote de malanga)	41
CUADRO 10. (Análisis de varianza de la variable número de raíces por brote de malanga).....	42
CUADRO 11. (Análisis de varianza de la variable longitud de raíces por brote de malanga).....	44
CUADRO 12. (Solución madre de los medios de cultivo Murashige y Skoog)...	52
CUADRO 13 (Componentes del medio de cultivo suplementado que puede llevar uno de los aminoácidos dependiendo la disponibilidad del laboratorio).....	53
CUADRO 14. (Medias totales de las variables de respuesta).....	55
CUADRO 15. (Cuadro de dosis e ingredientes activos de los agroquímicos usados)	64

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
FIGURA1. Producción de malanga en América.....	27
FIGURA 2. Total de números de brotes de malanga.....	35
FIGURA 3. Formación de brotes de malanga.....	36
FIGURA 4. Proceso de desarrollo de la malanga.....	36
FIGURA 5 . La formación de hoja por brote de malanga.....	37
FIGURA 6. Promedios de número de hojas por brote de malanga.....	38
FIGURA 7. Promedios de longitud por brote de malanga.....	39
FIGURA 8. Longitudes de brotes de malanga.....	39
FIGURA 9. Raíces formadas por brote de malanga.....	40
FIGURA 10. Promedios de número de raíces por brote de malanga.....	41
FIGURA 11. Promedios de longitud de raíces por brotes de malanga.....	42
FIGURA 12. Brote con raíces bien formadas.....	42
FIGURA 13. Raíces bien desarrolladas en uno de los brotes.....	43
FIGURA 14. Síntesis del Ácido Indolacetico AIA.....	52
FIGURA 15. Síntesis de citocininas.....	52
FIGURA 16. Formulas químicas de las moléculas de los reguladores.....	53
FIGURA 17. Proceso de aclimatación de brotes de malanga.....	53
FIGURA 18. Esquema del cormo de malanga (<i>Colocasia esculenta</i>) S.....	54
FIGURA 19-22. (Equipo de laboratorio).....	54
FIGURAS 23- 31. (Proceso de siembra de explantes).....	55
FIGURA 32. (Cultivo establecido de malanga).....	56
FIGURA 33. (Plantas de malanga enrizadas colocadas en sustrato a los 30 días)..	57
FIGURA 34. (Plantas de Malanga aclimatadas a los 45 días).....	57

EVALUACIÓN DEL EFECTO DOS MEDIOS BASALES CON CINCO COMBINACIONES DE AUXINAS Y CITOCININAS PARA LA INDUCCIÓN DE BROTES *in Vitro* Y ENRAIZAMIENTO DE BROTES, DE MALANGA (*Colocasia esculenta*) Schott.

EFFECT EVALUATION OF TWO MEDIA AND FIVE COMBINACIÓN OF AUXINES AND CITOCININES *in Vitro* INDUCTION OF SPROUTS AND MALANGA (*Colocasia esculenta*) Schott SPROUTS ROOT DEVELOPMENT

RESUMEN

La necesidad de producir nuevas fuentes de divisas para Guatemala, obliga a buscar productos alternativos que además de generar ganancias, represente fuentes alimenticias para nuestra población por su alto contenido alimenticio, fácil propagación pocos cuidados y alto volumen de rendimiento. Pocos productos agrícolas llenan las cualidades anteriormente mencionadas, uno de ellos es la malanga (*Colocasia esculenta* S.), al cuál no se le ha dado la atención necesaria.

Siendo una de sus cualidades el alto contenido alimenticio y su fácil manejo la malanga es un cultivo para complementar la dieta alimenticia en la población rural ya que en muchos de los departamentos de Guatemala se le conoce y ya que el gobierno sin gran inversión puede utilizar este recurso ya presente en el país para combatir la hambruna y al mismo tiempo generar empleos y un ingreso extra en el campo.

Dado el interés de cultivarla a nivel industrial ha confrontado a los posibles productores del país con el problema de la obtención de una semilla uniforme con las mismas características fenotípicas para la producción, ya que no existen áreas definidas para la obtención de la misma, puesto que hay en Guatemala una alta variabilidad de especies, se corre el riesgo de que las cultivadas no sean las aceptadas en los mercados del exterior. Parte del problema de la propagación tradicional es que al ser colectada y transportada de las distintas áreas de cosecha, al área del cultivo esta pierde viabilidad. Porque la colecta de esta planta, se realiza en una forma rudimentaria y artesanal, lo que le causa daños y la hace muy susceptible a enfermedades.

Este problema puede tener una solución por medio de la técnica de cultivo de tejidos vegetales.

Dado que para fortalecer el pobre sistema agrícola de cultivos tradicionales, solo resta encontrar soluciones alternativas para fortalecer la producción agrícola en bienestar del país y de la población que puede sustituir otros cultivos, por los de malanga para fortalecer la alimentación y los ingresos per capita en el área rural

Siendo el objetivo primordial de este estudio el analizar las dosis indicadas para provocar una buena respuesta para dar alternativas que puedan ser llevados acabo, en nuestro país como el desarrollo de una nueva fuente de producción alimenticia y económica a un costo no elevado para desarrollar así como otras alternativas de producción agrícola.

El presente estudio busca solucionarlo, por ello es que se realizó en los laboratorios de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tuvo como objetivo evaluar dos medios basales con cinco combinaciones de auxinas y citocininas para realizar la formación de brotes y realizar la fase de enraizamiento de los brotes de malanga, para el cual se realizó un experimento utilizando un diseño estadístico del tipo completamente al azar con arreglo bifactorial, para todas las variables de respuesta teniendo un total de 12 tratamientos con diez repeticiones siendo un total de 120 unidades experimentales tomando los datos a los 150 días después de la siembra en los medios de cultivo. Las variables de respuesta fueron: número de brote por tratamiento, longitud de brotes por tratamiento, número de hojas por brote, número de raíces por brote y longitud de raíces por brote.

Se observó que los tratamientos experimentados en este estudio y los cuales lograron una mejor respuesta y mejor producción de especímenes adaptables y sanos, que presentaron mayor respuesta en las variables de número de brotes, siendo los que recibieron las dosis de 0.15 ppm, 1.5 ppm, 2 ppm de ácido indolacético y 1.0 ppm, 1.5 ppm y 2.0 ppm de cinetina, en la variable de número de hojas por brote los tratamientos más altos fueron los de las dosis de 0.15 ppm, 20 ppm de ácido indolacético y 1.0 ppm, 2.0 ppm de cinetina, en la variable de longitud de brotes los tratamientos que presentaron las respuestas más altas fueron los de las dosis 0 ppm, 0.15 ppm, 10 ppm de ácido indolacético y 0 ppm, 1.0 ppm, 0.1 ppm de cinetina, en el número de raíces los tratamientos que presentaron las respuestas más altas aplicando las dosis de 0.15 ppm, 10 ppm de ácido indolacético y 1.0 ppm, 0.1 ppm de cinetina, en la variable de respuesta de la longitud de raíces por brote el único tratamiento que obtuvo la respuesta más alta con una dosis de 10 ppm de ácido indolacético y 0.1 ppm de cinetina, el uso de medios suplementados con L-arginina para la inducción de raíces no produjo efectos significativos.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
AREA INTEGRADA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS MEDIOS BASALES CON CINCO COMBINACIONES DE
AUXINAS Y CITOCININAS PARA LA INDUCCIÓN DE BROTES *in Vitro* Y ENRAIZAMIENTO DE
BROTES, DE MALANGA (*Colocasia esculenta*) Schott.

EDUARDO TARACENA ZAMORA
CARNE 9620062

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los cultivos con mas alto potencial de producción en Guatemala es la malanga (*Colocasia esculenta* Schott) conocida también como, taro, badú. Yampí y otros nombres según la región y continente, por su gran contenido de almidones es muy utilizado por la industria. En la década de los años ochenta, se incremento su cultivo como parte de la producción de productos no tradicionales, considerada una de las especies de raíces y tubérculos más importante en la zona tropical.

Esta planta, que pertenece a la familia de las Aráceas y tiene un alto valor nutritivo, (23 – 60% de carbohidratos). Es de fácil manejo, este cultivo ha sido de gran interés por su gran aceptación en el mercado exterior (9). La malanga es un recurso genético presente en Guatemala, al cuál no se le ha dado la importancia necesaria, a pesar de ser un cultivo de grandes expectativas para la población, especialmente en la región del Atlántico y el norte (3) de la republica, de implementarse este producto seria un alternativa para disminuir no solo la pobreza sino una fuente de alimentos.

Aunque no se le ha dado el énfasis en la explotación nacional para incrementar el consumo interno, ya que dados sus altos contenidos alimenticios esta pueda ser utilizada en programas de alimentación y cultivos alternativos en áreas declaradas zonas de emergencia por sus características ya definidas.

Existe una fuerte demanda para este producto, en los países afro caribeños, asiáticos y de forma especial en los Estados Unidos de Norte América por la gran cantidad de emigrantes que viven en este país, para poder exportar deben cumplirse con ciertas exigencias, normas pero no son difíciles de cumplir por ejemplo el color (blanco ó lila), tamaño (de 15 cm. de largo y 5 cm. de ancho), peso (de 100 a 150 grs.) y un contenido no menor de un (2% de proteínas y de un 26% de carbohidratos), así como exigencias fitosanitarias. Otro mercado es la industrialización para la extracción de almidones y otros compuestos como el sorbitol, glucosa y saborizantes. (1, 22).

Los futuros cultivadores del país se han enfrentado con el problema de obtención de semilla para la producción, ya que no existen variedades definidas para la obtención. En Guatemala existe una alta cantidad de especies por lo que se corre el riesgo de que al cultivarlas no sean las aceptadas. Este problema se puede resolver por medio de la técnica de micropropagación, nos asegura un cultivo uniforme al utilizar porciones de tejido vegetal de una misma planta, escogida por sus características genéticas, la más adecuada para desarrollar un cultivo. En laboratorio dentro de un medio aséptico nutritivo con hormonas vegetales para inducir la dediferenciación celular y así obtener otras plantas, con características similares y uniformes haciendo viable un desarrollo agrícola tecnificado de alto rendimiento. En el futuro no muy lejano será un rubro importante en el desarrollo del país, además de producir divisas, generar industrias y una fuente de alimentación económica para el pueblo de Guatemala.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El objetivo del presente estudio buscó la obtención de brotes y el enraizamiento de los mismos, utilizando la técnica de cultivo de tejidos vegetales, que nos permite obtener plantas uniformes con las características deseadas, con la formación y desarrollo de brotes a través de la desdiferenciación de porciones de tejidos vegetales al ser colocados en medios enriquecidos con los elementos esenciales y con hormonas que induzcan a la formación de brotes, los resultados obtenidos en el presente trabajo le permitirán a los productores de malanga la metodología para obtener el mayor número de plantas con las características deseadas para poder establecer sus cultivos.

La malanga (*Colocasia esculenta* Schott) es un cultivo con grandes posibilidades para la agroindustria. Los productores de la misma son quienes encontraron que uno de los problemas más comunes, es la obtención de semilla en grandes cantidades para la producción, puesto que no existen áreas de producción definidas y debido a la alta variabilidad de especies en Guatemala, se corre el riesgo de que no puedan ser aceptados en el mercado exterior; lo que se define generalmente como semilla para propagar es el tallo modificado conocido como cormo el cual toma mucho tiempo en ser recolectada en una cantidad adecuada para propósitos de explotación en masa.

Ya que en Guatemala como pudo comprobarse se encuentran gran cantidad de cultivares de diferentes variedades de malanga y el interés es introducir este cultivo en grandes cantidades de una sola especie en varias áreas, para satisfacer las necesidades de materia prima y generación de alimentos, la cual conlleva a la comercialización e industrialización con los propósitos de exportación y nuevas fuentes de trabajo así como alimenticias que cumplan con los niveles indicados de proteínas y carbohidratos requeridos a nivel internacional.

Una parte del problema de la propagación tradicional es que al ser colectada y transportada de las distintas áreas de cosecha, al área de transplante y desarrollo para el cultivo esta pierde viabilidad, porque se realiza en una forma sumamente rudimentaria y artesanal, lo que le causa daños haciéndola muy susceptible a enfermedades, la cual es otro problema para los productores de malanga.

El obtener semillas con características uniformes, como el color, tamaño, contenido de proteínas en el cormo, resistencia a enfermedades y plagas, y características genéticas similares que es lo fundamental para ser usada como materia prima por los consumidores, es el uno de los problemas con los que se encuentran los interesados en el cultivo de la malanga.

3. MARCO TEORICO

3.1. MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS (13, 14)

Clasificación botánica.

Nombre científico:	<i>Colocasia esculenta</i> Schott
Nombre Común:	Malanga
Sinónimo:	Dashen, taro, quiquisque, ñampi
División:	Magnoliophyta
Clase:	Lilipsida
Subclase:	Aracidae
Orden:	Arales
Familia:	Araceae
Género:	Colocasia
Epíteto específico	esculenta

La malanga es una planta herbácea que puede medir hasta 2 m de altura, con un tallo central subterráneo de forma cilíndrica o esférica llamado cormo, el cual produce cormelos, raíces y las hojas. Existen dos tipos: la malanga, conocida mundialmente como "dasheen" cuyo cormo puede medir 30 cm de largo y 15 de diámetro. Es muy poco cultivada en el país y produce estructuras pequeñas, que son lo que conocemos como el cormelo principal (5, 13, 20).

En la zona Atlántica, este cultivo produce aproximadamente siete toneladas por hectárea. El tallo central es elipsoidal, subterráneo y rico en carbohidratos (18-30% en base fresca). Del cormo central se desarrollan cormelos laterales recubiertos con escamas fibrosas. El color de la pulpa por lo general es blanco, pero también se presentan clones coloreados hasta llegar al violáceo (Ministerio de Agricultura de Cuba, 1977). Según el clon, la forma varía de cilíndrica hasta casi esférica y el tipo de ramificación desde simple a muy ramificada. Presenta marcas transversales que son las cicatrices de la hoja con frecuencia con fibras y está cubierta por una capa corchosa delgada y suelta (20).

Internamente el cormo se divide en la zona cortical y el cilindro central. La primera es angosta, de apariencia compacta, está formada por parénquima de células isodiamétricas con alto contenido de almidón. En el cilindro central el tejido básico es parénquima, pero de células más irregulares y con paredes delgadas, constituidas principalmente por almidón. Estas características del almidón y el contenido de minerales y

vitaminas, hacen de los cormos de malanga una fuente de alimento nutritivo y de alta digestibilidad. En el cilindro central se localizan también los haces vasculares, canales de mucílago y rafidios de oxalato de calcio (León, 1987) (16).

Hojas, son por general de forma peltada. Se producen en el meristemo apical del cormo y aparecen arrolladas por la base formando un pseudotallo corto. Las hojas nuevas salen enrolladas de entre los pecíolos de las ya formadas y las laterales más viejas se marchitan y secan. En los primeros seis meses el área foliar se incrementa rápidamente, para luego mantenerse estable mientras aumenta el peso de los órganos subterráneos. El pecíolo es cilíndrico en la base y acanalado en la parte superior, mostrando una coloración que varía según el clon. Es característica distintiva la presencia de líneas longitudinales amarillas o rosadas y de manchas o puntos rojizos a violáceos hacia la base. El pecíolo se inserta en la parte media del limbo de la hoja del cual se conecta directamente a los tres nervios principales; el ángulo que forma el pecíolo con la lámina es característica varietal. En algunos clones la inserción del pecíolo determina que la lámina tome una posición vertical y en otros inclinada. La proporción largo: ancho varía con el clon. De la inserción del pecíolo parte el nervio central, que termina en el ápice de la hoja y dos nervios basales. El color varía de verde-claro y verde-púrpura (León, 1987) (16).

Inflorescencias. Dos o más inflorescencias emergen del meristemo apical del cormo, entre los pecíolos de las hojas. Se forman de una hoja envolvente denominada espata que rodea el espádice. Son estructuras características de las aráceas. Del eje de éste último se insertan las flores sésiles. En la parte inferior lleva flores pistiladas las cuales no se desarrollan, se secan y desprenden. La malanga tiene una producción errática de semillas, pero se conocen casos de formación de semillas normales en numerosos sitios de su distribución geográfica (León, 1987) (16).

3.1.2. ORIGEN

Varios autores coinciden que el origen de la malanga está en los trópicos americanos y específicamente en la zona de las Antillas, y que luego se trasladó al oeste del continente Africano.

Cuando los europeos llegaron al continente americano, encontraron este producto desde el sur de México hasta Bolivia (10).

Entre los países de América Central o del Sur, en la zona de las Antillas se ha encontrado la mayor cantidad de ecotipos (variedades) de este producto (10).

3.1.3. REQUERIMIENTOS

3.1.3.1. CLIMA Y SUELO

El cultivo de la malanga requiere de clima cálido húmedo, con temperaturas que fluctúan entre 20 y 30 grados centígrados, con buena luminosidad. No tolera bajas temperaturas. La malanga es una planta tropical, por lo tanto se cultiva bien en altitudes bajas y medianas no mayores a los 1000 msnm. , y con una humedad relativa del ambiente del 70 al 80%; sin embargo puede soportar períodos de sequía no muy largos. La malanga se desarrolla bien donde hay suficiente humedad durante el año, sin embargo no acepta el encharcamiento. El requerimiento de precipitación de lluvias está alrededor de 1500 a 2500 mm (16, 10).

La malanga produce bien en suelos sueltos, arenosos, profundos, de textura media y bien drenada y con alguna cantidad de materia orgánica. Los suelos arcillosos no son convenientes para este cultivo. Su pH adecuado esta entre 5.5 a 6.5. Es tolerante a cierto grado de salinidad de los suelos (10).

3.1.4. CICLO REPRODUCTIVO

Esta en función de la variedad sembrada, pero en general va desde los 8 hasta los 15 meses; dependiendo también de la fertilidad y la presencia de la humedad en el suelo. La cosecha de cormelos de la malanga puede ser diferida hasta por tres meses, esto facilita al productor para adecuarse a la demanda del mercado (10).

3.1.5. CULTIVARES

Del género *Colocasia* se derivan numerosas variedades botánicas y cultivares, sin embargo, se han dividido en dos grupos o tipos (20):

1. Tipo Eddoe, en la que el cormo central es pequeño y los cormelos son grandes.
2. Tipo Dasheen, en que el cormo central es grande y los cormelos son pequeños.

3.1.6. ESPECIES

Las dos especies de malanga que más se comercializan en Estados Unidos son la blanca y la lila.

Las cuales tienen varios nombres comerciales las cuales son las siguientes: malanga blanca (*Xanthosoma sagittifolia*), malanga amarilla (*Xanthosoma atrovirens*), malanga cabeza (*Colocasia esculenta*), malanga isleña (*Colocasia esculenta*), malanga lila (*Xanthosoma vinlaceum*) (12).

3.1.7. ZONAS DE PRODUCCIÓN EN GUATEMALA

La malanga se produce principalmente Quetzaltenango, Quiché, Huehuetenango, Retalhuleu, San Marcos, Suchitepéquez, Escuintla, Santa Rosa, Izabal, Alta y Baja Verapaz, Guatemala, Chimaltenango, Sacatequez y Sololá. (12)

3.1.8. LA TÉCNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS

Cerone (1995), cita el concepto de propagación *in vitro* que significa en latín “en vidrio” y abarca el cultivo aséptico de protoplastos, células, tejidos u órganos. Al igual que otros métodos de multiplicación vegetativa o asexual, los individuos descendientes de una sola planta madre propagada *in vitro* son clones, es decir, son copias genéticamente idénticas entre ellas e idénticas a la planta madre. Esta técnica, consiste en cultivar una porción de tejido de una planta con potencialidad de diferenciación bajo condiciones asépticas en presencia de una dieta balanceada de nutrientes y hormonas. Cuando el explante (material inicial en cultivo *in vitro*, puede ser una pequeña porción de tallo, hoja, yema ó raíz), se coloca en un tubo de cultivo bajo las condiciones antes descritas, producirá pequeñas plántulas, réplicas del progenitor. Se obtendrá un número alto de plántulas que se necesitará separarlas frecuentemente para que puedan sobrevivir (19).

La totipotencia de una célula esta definida como la capacidad de desarrollar a un individuo completo, basado en que toda la célula contiene la información genética necesaria para dar origen a un individuo completo, término acuñado por Morga en 1901 (9, 14, 19).

3.1.9. ESTABLECIMIENTO DE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

Como lo menciona Abdelnour (1993), la amplitud de definición de cultivo de tejidos y los numerosos objetivos que éstos persiguen, constituyen serios escollos en cualquier intento de generalización sobre los factores que afectan el establecimiento de tales cultivos *in vitro* y obligan a consideraciones previas para determinar el alcance de los mismos (2, 9, 19).

3.1.10. IMPACTO DEL CULTIVO DE TEJIDOS

Según American Orchid Society Bulletin (1960) y Arditty (1977), En los años 60's cuando se desarrolló el procedimiento para multiplicar y mantener plantas en cultivos de tejidos asépticos, hubo un impacto dramático y se debió a que se descubrió la capacidad que tienen las puntas de los brotes y de los meristemas en orquídeas, cortados apropiadamente y sembrados en cultivo aséptico, para producir protuberancias capaces de crecer y desarrollarse en plántulas. También Ammirato (1940), manifiesta que desde esa fecha se han desarrollado una gran cantidad de trabajos con respecto a los requerimientos nutricionales en

medios de cultivo de tejidos y que la mayor parte se pueden cultivar con éxito en medios que contengan la mezcla de sales minerales diseñadas para mantener el crecimiento de tejidos y órganos, pero hay otros tejidos que no presentan crecimiento en soluciones salinas simples y de esa manera se tiene que completar con otros microelementos, vitaminas y otras sustancias promotoras de crecimiento, tales como el agua de coco (AC), la caseína hidrolizada (CH), los extractos de levadura de malta y otros (19).

3.1.11. ASEPSIA

Mronginski, et al., (1981) aseguran que la asociación explante-medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos (bacterias y hongos) los cuales pueden destruir tales cultivos. Entre las fuentes de donde proceden los contaminantes podemos mencionar los siguientes: los tejidos, pueden llevar contaminantes en su superficie (contaminadores exógenos) o en su interior (contaminadores endógenos), o en ambas partes (exógenos y endógenos). La contaminación superficial, se puede eliminar por desinfección, pero la interior es difícil de eliminar. En este último caso puede ser útil la inclusión de fungistáticos ó bacteriostáticos en el medio de cultivo (18, 19).

Es difícil lograr cultivos completamente estériles en el estricto sentido de la palabra. Para establecer cultivos asépticos es conveniente: a) trabajar en ambientes adecuados; b) esterilizar los medios de cultivo; c) desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos y d) realizar los cultivos de acuerdo a las normas de asepsia (19).

3.1.12. VENTAJAS DEL CULTIVO DE TEJIDOS

De acuerdo con Ovalle (1996), la producción de plantas *in vitro* ha avanzado a tal punto que ahora es posible conseguir réplicas idénticas de plantas madres en cualquier época del año y en sólo la mitad de tiempo que normalmente se tomaría con el uso de las semillas botánicas. Además, las pequeñas plántulas producidas bajo techo requieren menos espacio para desarrollarse, se conservan libres de patógenos si la planta madre está libre de ellos y si se toman las precauciones para evitar la infección. Todas las ventajas del sistema de clonaje son aprovechadas actualmente en muchas partes del mundo con fines diversos (19).

3.1.13. DESVENTAJAS DEL CULTIVO DE TEJIDOS

Los problemas que se presentan inician con el costo de las instalaciones, según lo manifiesta Curumaco (1998) y en muchas especies de plantas consideradas económicas, es probable que no se justifique su empleo en forma comercial, ya que se necesita un adiestramiento específico para realizar las operaciones y los

errores en la identidad, la introducción de organismos patógenos desconocidos y la aparición de un mutante desapercibido se pueden multiplicar en un tiempo reducido. Se debe realizar una verificación del cultivo que se maneje (19).

3.1.14. USOS DEL CULTIVO DE TEJIDOS

(Bajaj, 1979; Kartha, Leung y Pahl, 1980; Westcott, Henshaw, Grout y Roca, 1977), contemplan dos usos principales para el sistema de Cultivo de Tejidos a) la propagación rápida en masa de clones y b) el desarrollo, mantenimiento y distribución de clones específicos probados para organismos patógenos, así como la potencialidad para realizar embarques de material de propagación a grandes distancias y la posibilidad de almacenamiento a largo plazo de material clonal. Así mismo (Douglas, 1979) indica que los sistemas de cultivo de tejidos tienen potencial para la producción de varios productos secundarios tales como sustancias farmacéuticas en suspensiones de células; y para (Brettel é Ingram, 1979; Gamborg et al, 1979; Vasil y Huntrieser, 1979) tienen otras aplicaciones en la crianza de plantas (19).

3.1.15. CALIDAD DEL MATERIAL VEGETATIVO

Como lo cita Solórzano (1982), muchos de los cultivos que se propagan por medio de material vegetativo, estolones ó tubérculos, sufren un deterioro en su calidad y rendimiento a causa del ataque de hongos, virus, bacterias y nemátodos que se propagan en ciclos sucesivos de cultivo por medio del material vegetativo infectado. Una forma de resolver este problema ha sido por medio de la propagación con cultivo de tejidos, los cuales se pueden limpiar de todo tipo de patógenos en el laboratorio. Las plantitas así obtenidas, producen cosechas abundantes, sin gastos excesivos en (11).

Prácticas de control fitosanitario. La propagación clonal también puede efectuarse en cualquier época del año y no se ve afectada por el clima o latitud pues se realiza en una atmósfera controlada. Además, este sistema de multiplicación de plantas, especialmente cuando se realiza por medio de cultivo de tejidos, ocupa un espacio reducido (2, 19).

3.1.16. PROCESO DEL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

Usui et al (1996), citan que con respecto al proceso de cultivo de tejidos vegetales existen algunas diferencias determinadas por los fines que se pretenden alcanzar al realizar esta actividad. Sin embargo, de una manera general distinguen las siguientes fases (2, 19).

3.1.16.1. Cultivo de Iniciación Fase I

Los materiales extraídos de la planta (explantes) forman callo u órganos.

3.1.16.2. Subcultivo Fase II

Los materiales vegetales se propagan, y se cambian regularmente a un medio fresco para mantener buenas condiciones nutricionales (12).

3.1.16.3. Enraizamiento Fase III

En esta fase, los materiales enraízan, controlando las condiciones de luz y temperatura de manera que las plantas *in vitro* se adapten más fácilmente a las condiciones naturales. La función de esta etapa es la preparación de la planta para su trasplante al invernadero, es decir, fuera del medio artificial o del recipiente cerrado del cultivo; aquí se da un cambio el cual favorecerá la iniciación de raíces y su alargamiento del tallo. Esto se logra aumentando la concentración de auxinas y desapareciendo las citocininas. Murashige y Skoog, (1962), definen la etapa III, como enraizamiento o pretrasplante y dicen que el objetivo es producir una planta autotrófica la cual pueda estar en condiciones de sobrevivir al ser trasplantada al suelo. O valle (1996), menciona que la obtención final de plantas completas involucra: el desarrollo del explante inicial, la formación de yemas laterales (multiplicación), crecimiento y enraizamiento (ver anexos) (19).

Es recomendable que al remover las plantas del frasco de cultivo ya enraizado, el residuo del medio de cultivo adherido a las raíces debe lavarse con agua corriente, luego las plantas se siembran en un sustrato de adecuada textura, preferiblemente estéril o que no provenga de lugares donde se tengan plantas de la misma semilla (2, 9, 19).

3.1.17. MACRONUTRIENTES

Los tejidos en cultivo requieren de una fuente continua de compuestos inorgánicos además de carbono, hidrógeno y oxígeno, los elementos más requeridos son principalmente: N, P, K, Ca, Mg, y S (1, 2, 3).

El nitrógeno se adiciona en grandes cantidades y se encuentra presente en el medio en forma de nitrato o iones de amonio, o la combinación de ambos. El sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) satisface el requerimiento de magnesio con el azufre, el fósforo puede adicionarse en cualquiera de las formas $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ o KH_2PO_4 , el potasio se encuentra en grandes cantidades en la naturaleza: es un catión que se agrega en forma de KCl, KNO_3 ó KH_2PO_4 , el calcio se adiciona con $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ o la forma anhidra de cualquier sal. El sodio este catión no es requerido por la plantas superiores, sin embargo puede ser un elemento esencial de halofitas o plantas C_4 , el cloro esta presente en la forma de KCl ó CaCl_2 (2, 7, 9, 19).

3.1.18. MICRONUTRIENTES

Para una adecuada actividad metabólica, las células vegetales requieren de micronutrientes. Los más esenciales son: Fe, Mn, Zn, Bo, Cu, Co, y Mo. Los últimos cinco elementos son fundamentales para la síntesis de clorofila y la función de los cloroplastos (2, 9, 19).

El hierro es requerido para la formación de precursores de la clorofila. El manganeso es necesario para el mantenimiento de la ultra estructura y el proceso fotosintético (la actividad del fotosistema II es proporcional al contenido de manganeso). El cobre y zinc son requeridos para la oxidación e hidroxilación de compuesto fenólicos. El molibdeno y hierro forman parte de las enzimas nitrato reductasa y nitrogenasa. El cobalto es el metal componente de la vitamina B12. El boro es necesario para el mantenimiento de la actividad meristemática, está involucrado en la síntesis de bases nitrogenadas, en particular uracilo (2, 7, 9, 19).

Varios micronutrientes están relacionados con la actividad de los reguladores de crecimiento. Ejemplos: Zn-auxinas (Zn está relacionado con la síntesis de triptófano, precursor del AIA). Boro: deficiencia de boro reprime la síntesis de citocininas, pero aumentan los niveles de auxinas (19).

Aquellos quelatos; son compuestos cuyas moléculas son capaces de detener un ión de un metal con varias uniones químicas formando un anillo complejo (un quelato) Ejemplo: EDTA (ácido etilennitrotetraacético). Bajas concentraciones de EDTA estimulan el crecimiento, haciendo que el hierro esté disponible en bajas cantidades (2, 7, 9, 19).

3.1.19. VITAMINAS

Las plantas verdes se consideraban normalmente autótrofas para las vitaminas, pero puede ser necesario añadir al medio algunas de ellas, hasta cuando los cultivos crezcan o se hayan vuelto verdes. En la mayoría de los medios, la tiamina, la piridoxina y el ácido nicotínico se consideran benéficas y se añaden de forma rutinaria. Las vitaminas son necesarias para llevar a cabo una serie de reacciones catalíticas en el metabolismo y son requeridas en pequeñas cantidades. Las vitaminas más empleadas son tiamina (vitamina B1): se añade como tiamina HCl en cantidades que varían de 0.1 a 30 mg/l. Esta es realmente la única vitamina esencial para el crecimiento de células vegetales. Ácido nicotínico (niacina). Piridoxina (vitamina B6) se añade como piridoxina-HCl. Mio-inositol: no es propiamente una vitamina, sino un azúcar-alcohol. Tiene un efecto estimulante sobre la morfogénesis, partiendo probablemente en la vía biosintética del ácido galacturónico; Ácido pantótenico: ayuda al crecimiento de ciertos tejidos. Ácido fólico: disminuye la proliferación de tejido en la oscuridad, mientras que en la luz la aumenta, esto es debido a que en presencia de luz, es hidrolizado a ácido p-aminobenzóico. Riboflavina: es inhibidor del crecimiento de raíces. Vitamina E: ayuda a la formación de callos que provienen de embriones y en cultivos en suspensión, ayuda la viabilidad de células (2, 7, 9, 19).

3.1.20. AMINOÁCIDOS

Ningún aminoácido es esencial para el crecimiento de tejidos in vitro, sin embargo existen varios que se han utilizado experimentalmente. Los aminoácidos proporcionan una fuente inmediata de nitrógeno al tejido y su asimilación puede ser más rápida que el nitrógeno inorgánico proporcionado por el medio. Los aminoácidos también pueden actuar como agentes quelantes. A continuación se indican las funciones principales de los aminoácidos en sistemas in vitro. La glutamina y asparagina son transportadores de nitrógeno. L-arginina estimula raíces. L-serina es empleada en cultivo de microsporas y L-cisteína es un agente reductor (2, 7, 9, 19).

3.1.21. CARBOHIDRATOS

Son utilizados como fuente de energía y como reguladores osmóticos. Sacarosa es el azúcar empleado universalmente. Le siguen en importancia glucosa, maltosa, rafinosa, fructuosa, galactosa, manosa y lactosa (2, 7, 9, 19).

3.1.22. AGUA

El agua utilizada para la preparación de soluciones debe ser bidestilada, tridestilada o desmineralizada, de cualquier forma el empleo de un destilador de vidrio es requerido en la destilación final (2, 7, 9, 19).

3.1.23. AGENTES SOLIDIFICANTES

Comúnmente se ha empleado el agar como un sistema de “soporte” para la preparación de medios sólidos o semisólidos. Las ventajas que representa el agar son (2, 7, 9, 19):

- A) Con agua el agar forma geles que se derriten a 100 grados centígrados y se solidifican a 45 grados centígrados. Esto significa que este gel es estable a todas las temperaturas de incubación.
- B) El agar no es alterado por las enzimas vegetales.
- C) El agar no reacciona con los constituyentes del medio.
- D) No interfiere con la movilización de los constituyentes del medio

Otros compuestos se han empleado para sustituir el agar, sin embargo, pocos han tenido éxito. Posiblemente el que más popularidad ha alcanzado es el “Geirite” (2, 7, 9, 19).

3.1.24. INFLUENCIA DE TEMPERATURA

La temperatura de los cuartos de incubación de tejidos se regula en forma constante de 22-25 grados centígrados. Esta práctica es criticable puesto que la temperatura real de los tejidos en el interior de los

recipientes de cultivo puede ser mayor en dos a cuatro grados centígrados a la del cuatro (según mediciones hechos por termopares). En la práctica se regula la temperatura del cuatro en dos grados centígrados por debajo de la que se desee para los tejidos cultivados. Las especies de clima templado están acostumbradas a temperaturas más bajas que las especies tropicales. Por esta razón sería importante tener en los cuartos de incubación una temperatura del orden de 20 a 1 grados centígrados para la primera y del orden de 25 a 1 grado centígrado (19).

3.1.25. MICROPROPAGACIÓN MASIVA

Básicamente, todas las células vegetales poseen la característica de la totipotencia, es decir su capacidad de desarrollar una planta completa mediante el proceso de regeneración. Existen técnicas convencionales de propagación que utilizan esta característica particular de las plantas, tal como una injertación con todas sus variantes. Así también la técnica de cultivo de tejidos vegetales utiliza esta característica, aunque más eficientemente que las técnicas tradicionales, debido a que proporciona un ambiente artificial favorable para el desarrollo de las plantas (19).

3.1.26. PASOS EN LA MICROPROPAGACION

Murashige ha propuesto tres pasos fundamentales para micropropagar eficientemente una especie: A) el establecimiento aséptico del cultivo, B) su multiplicación y C) el enraizamiento y la preparación del inóculo para su trasplante al suelo. A continuación se discutirán estos pasos con mayor detalle (19).

3.1.26.1. ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO ASÉPTICO

Una vez seleccionado el mejor explante se requiere desinfectarlo superficialmente, la razón en el medio del cultivo pueden crecer microorganismos, principalmente bacterias y hongos, que competirán ventajosamente con el explante. Para esta desinfección se han empleado diferentes compuestos, siendo los más comunes las soluciones de hipoclorito de sodio y de calcio, el peróxido de hidrógeno, el nitrato de plata, el cloro comercial, el alcohol a diferentes porcentajes, y otros. La selección y concentración de los desinfectantes y el tiempo de desinfección se determinan en gran medida, por las características del explante, en la práctica, se establecen experimentalmente por ensayo y error (9).

3.1.26.2. CRECIMIENTO DEL INOCULO

El estado de crecimiento, el explante se multiplica con la formación de callos o sin ella, según las condiciones de cultivo. La fase intermedia de formación de callos se evita cuando se tienen fines de

micropropagación debido al hecho, ya ampliamente conocido, de que las plantas provenientes de callos presentan diferentes grados de variación, ésta puede ser de tipo epigenético o corresponde a mutaciones verdaderas (9).

Es importante considerar también que la fase de crecimiento puede deberse a la división de las células, al aumento de su tamaño o a ambas cosas.

3.1.26.3. ENRAIZAMIENTO DE LOS BROTES Y PREPARACIÓN PARA SU TRASPLANTE

El proceso de enraizamiento en los brotes propagados in vitro requiere generalmente del trasplante a un medio de cultivo con menos concentración de sales. El medio de Murashige et al (1962) por ejemplo diluido al 50% ha dado resultados positivos en diferentes especies, asimismo, se requiere cambiar el balance hormonal, esto es, disminuir las citocininas y aumentar las auxinas exógenas ha sido suficiente estímulo para la diferenciación del sistema radical (19).

Si el sistema radical fue diferenciado in vitro, las plantas no se pueden trasplantar directamente a las condiciones de invernadero sin una paulatina adaptación a las condiciones del suelo. A este periodo de adaptación se le ha denominado período de endurecimiento (19).

De acuerdo con los procedimientos seguidos por Villalobos y Torpe con especies anuales, leñosas y suculentas, las plantas obtenidas in vitro se deben lavar cuidadosamente para eliminar todos los residuos de agar, que pueden ser una fuente de contaminación. Posteriormente, se trasplanta a recipientes con suelo estéril y se cubren con bolsas de polietileno, que se van perforando gradualmente hasta que queden eliminadas completamente en un período de 15 a 20 días, esto se hace con el objeto de adaptar paulatinamente las plantas a las condiciones del invernadero. Durante esta fase de endurecimiento, las plantas se riegan preferentemente con medio de cultivo diluido al 50% y posteriormente se sustituye esta fórmula de riego por soluciones nutritivas menos complejas (19).

3.1.27. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROPROPAGACION

Existen diferentes factores que determinan el éxito en los sistemas de micropropagación. A continuación se mencionan aquellos más importantes acerca de los cuáles se ha acumulado mayor información (2, 7, 19).

3.1.28. PLANTA QUE DONA EL EXPLANTE

El estado fisiológico de la planta que da el explante (planta madre) influye significativamente en su capacidad morfogenética. Se ha encontrado, por ejemplo, que los requerimientos nutricionales y hormonales difieren cuando los tejidos cultivados provienen de plantas en diferentes edades fisiológicas.

Asimismo, se ha observado que la edad fisiológica del explante tiene gran influencia en la morfogénesis. Se sabe que mientras más joven y menos diferenciado esté el tejido que se va a sembrar, mejor será la respuesta *in vitro*.

3.1.29. EL EXPLANTE

Como se mencionó anteriormente, el explante es una parte de un tejido o de un órgano que se aísla del resto de la planta confines de cultivo. La selección del explante puede hacerse teniendo en cuenta el sistema de propagación de la planta.

El tamaño de explante no tiene aparentemente mayor influencia. Solamente en el caso de que se presentan obtener plantas libres de virus, los meristemas (sin primordios foliares) tienen una alta probabilidad de diferenciar plantas libres de estos patógenos, sin embargo, es más difícil regenerar de ellos plantas completas (19).

3.1.30. FACTORES FISICOS

Aun cuando muchos factores pueden influir en la micropropagación, los factores físicos juegan un papel determinante, la luz y la temperatura han sido los factores físicos mas extensivamente estudiados (12).

El papel de la luz en la diferenciación involucra varios componentes como son la intensidad, el fotoperíodo y la calidad, aunque se reconoce la importancia morfogenética de estos componentes, los estudios realizados con el fin de analizarlos son escasos (19).

3.1.31. MEDIO DE CULTIVO

De acuerdo con Gamborg et al. (1976) el éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física (19).

3.1.32. FITORREGULADORES HORMONALES

CONCEPTO GENERAL. Los fitoreguladores más utilizados tienen moléculas iguales o muy similares a las hormonas naturales, por lo que se consideran hormonas sintéticas. La acción de los fitoreguladores hormonales es la misma, o muy parecida a la de las hormonas naturales, existen réplicas sintéticas de los principales grupos (21).

Una relación completa de las auxinas, giberelinas y citocininas, lo mismo que de los generadores de etileno utilizados en agricultura, incluyendo su nombre químico, técnico y comercial, junto con información química y biológica se encuentra en Thompson (1981) y PGRWG (1981) (21).

3.1.33. GENERALIDADES DE LAS FITOHORMONAS

Guevara (1987), confirma que las hormonas son compuestos orgánicos que en pequeñas cantidades, y por la naturaleza de su molécula, fomentan, inhiben o modifican el desarrollo de las plantas. Las concentraciones de hormonas y la interacción entre auxinas y citocininas son importantes en el estudio; las auxinas se caracterizan por su capacidad de inducir la extensión de las células, en tanto que las citocininas son sustancias que provocan la división celular. Las auxinas tienen por objeto promover la división celular y la diferenciación de raíces. Normalmente se usan los compuestos siguientes como fuente de auxinas:

AIA (Ácido indolacético)

ANA (Ácido naftalenacético)

AIB (Ácido indolbutírico)

2,4-D (2,4-Ácido7 diclorofenoxiacético)

De acuerdo con Evans et al (1981), en el cultivo de tejidos las concentraciones de ciertas citoquininas pueden ser específicas pero no en el caso de BA o BAP. En los medios de cultivo de tejidos las concentraciones que se utilizan pueden ser bastante altas si se comparan con otras hormonas. Aunque pequeñas cantidades de citoquininas pueden ser sintetizadas por brotes apicales *in vitro* las principales biosíntesis de las citoquininas se llevan a cabo en las raíces. Es muy poco probable que los meristemos, brotes apicales y brotes de explantes, tengan suficiente citoquinina endógena para soportar el crecimiento y desarrollo de la planta, debido a esto, los medios de cultivo son suplidos con citoquininas, también es probable que algunos explantes cuenten con cantidades suficientes de hormonas endógenas para establecerse en el medio de cultivo de iniciación sin utilizar citoquininas. Las raíces contienen citoquininas que se transfieren hacia arriba (14, 21).

La capacidad de obtener un alto número de plantas aptas para la siembra, según Ovalle (1995), es relativa al manejo que se les brinde durante su período de adaptación. Se ha determinado que existen diferencias de adaptación entre diferentes especies. Los factores que influyen en esta etapa son variados y por lo tanto es necesario conocer los inconvenientes que se presentan con el establecimiento y manejo *in vitro* de las plantas propagadas. Esto hace necesario desarrollar una metodología de aclimatación que sea práctica y que persiga obtener un alto porcentaje de supervivencia, todo esto a un bajo costo, lo cual permite que el producto final llegue más rápido y en condiciones sanitarias favorables al agricultor (21).

3.1.34. FITOREGULADORES AUXÍNICOS

Para tener acción auxínica una molécula debe tener un radical ácido o ser fácilmente convertible a él, un anillo, y de 1 a 4 carbonos entre el carboxilo y el anillo, además hay otras consideraciones estéricas como la

posición del cloro. Todas las auxinas sintéticas causan efectos parecidos pero cada producto individual tiene una aplicación particular dentro de la acción general auxínica (16).

Existen tres grupos auxínicos: a) Derivados del indol, de los que se usan mucho los ácidos indopropiónico (IPA) e indolbutírico (IBA) y el IAA, que es la auxina natural típica que se utiliza poco en la tecnología por su gran movilidad en la planta. B) Derivados del naftaleno, siendo de amplio uso los ácidos naftalenacético (NAA) y naftoxiacético (Noxa o BNOA y el naftilpropiónico (NPA), c) Derivados fenoxi de los que se usan muchísimo los fenoxiclorados como herbicidas selectivos (2,4-D, 2, 4,5-T MCPA) pero que en ocasiones también tienen aplicación como hormonas (21).

3.1.34.1. AUXINAS

3.1.34.1.1. BIOSÍNTESIS el termino auxina designa cualquier hormona perteneciente al grupo auxínico pero a menudo se usan como sinónimos del ácido indolacético (IAA) que es la principal auxina natural y que posiblemente se sintetiza a partir del aminoácido triptofano (21) (ver anexos).

La auxina se sintetiza principalmente en el ápice del tallo y ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes y en general en los meristemos. El IAA es transportado como IAA-inositol principalmente. El transporte de la auxinas endógenas es basipetalo, pero si es sintetizada en la raíces acopétala (21).

3.1.34.1.2. ACCIÓN FUNDAMENTAL Se han propuestos varios mecanismos acerca de la acción del IAA sobre los ácidos nucleicos. Según uno de ellos actúa removiendo la capa de histonas que envuelven a la cadena de ADN y descubre mensajes que sin su acción, que darían reprimidos (21).

Otra hipótesis supone que el IAA actúa a nivel de la traducción del mensaje, precisamente sobre el enlace del aminoácido con el ATP que lo activa para unirse al RNA mensajero (acil-adénilato). Las evidencias experimentales apoyan la idea de que el IAA promueve o reprime la síntesis de fracciones del RNA mensajero por un mecanismo aún no conocido Zurfluh y Guilfoyle (1982) (21)

Es una característica de las auxinas el que a concentraciones bajas estimulen el metabolismo y desarrollo, y a concentraciones altas lo depriman como lo mostró hace muchos años Timan para el IAA y posteriormente Rojas Garcidueñas et al (1962) para el 2, 4-D (21).

3.1.34.1.3. EFECTOS CARACTERÍSTICOS EL principal efecto auxínico es la estimulación del alargamiento celular o su depresión según la concentración del producto. Este fue el síntoma que más llamó la atención a los primeros investigadores y ha sido bien establecido incluso para las auxinas usadas como herbicidas. (Rojas Garcidueñas y Comedla, 1958) (21).

Las auxinas, en interacción con otras hormonas, ejercen un efecto característico sobre la diferencia celular, promoviendo la formación de órganos adventicios. Se dice que promueven además una dediferenciación celular retornando las células a una fisiología de meristemo, tomando diversos caminos de rediferenciación, o formando masas de células indiferenciadas, verdaderos tumores que desorganizan la anatomía de los órganos, pudiendo causar la muerte como sucede con los herbicidas auxínicos. Como algo concomitante al efecto sobre el alargamiento, división y diferenciación celular se tiene la acción de la auxina sobre la dominancia apical y los tropismos (21).

3.1.35. FITORREGULADORES CITOCINICOS

Existen citocininas sintéticas que ya empiezan a usarse en agricultura por sí mismas, o mezcladas con otras hormonas. Las más utilizadas es la beciladenina (BA) que se aplica solo o como fitoregulator comercial (Promaline) que es una mezcla de GA4 Ga7 y BA. También se usa muchísimo en experimentación la furfuriladenina o Cinetina (21).

3.1.35.1. CITOCININAS

3.1.35.1.1. BIOSÍNTESIS Las citocininas se sintetizan principalmente en la raíz y su presencia en las yemas del tallo, donde tienen efecto hormonal (Friedrich et al 1971) puede ser por transporte de la raíz pero hay informes de su síntesis en la hojas (Henson, 1977). Por tener adenina en su molécula se cree que provenga parcialmente de productos de hidrólisis de fracciones de ácidos nucleicos; en el callo de tabaco se ha visto que otra fracción proviene del isopropenil fosfato (Chen, 1982) (21). (Ver anexos)

3.1.35.1.2. ACCIÓN FUNDAMENTAL

Se ha demostrado en cultivo de tejido que cuando se dan citocininas “marcadas” éstas aparecen en la cadena de RNA a la que se incorporan por llevar adenina en su molécula, esta incorporación es muy probable que tenga un efecto en la expresión fisiológica de los genes pero realmente no se ha demostrado. Fox y Erion (1977) encontraron que los ribosomas de la raíz tienen una gran capacidad para ligar las citocininas pero no encontraron evidencias de que las fracciones ligadas tuvieran una función biológica. Por otra parte, en la célula se encuentran proteínas que se conjugan con las citocininas pero no se sabe con que función (21).

3.1.35.1.3. EFECTOS CARACTERÍSTICOS

Uno de los efectos de las fitohormonas es activar la división celular, lo hacen indirectamente como efecto de la activación metabólica, otro efecto es determinar la dominancia apical y por ultimo promover la formación de órganos, la germinación etc (21).

Aun cuando todas las hormonas activan la división celular, lo hacen indirectamente como efecto de la activación metabólica, las citocininas son, típicamente las hormonas de la división celular y activan el proceso directamente. Otro de las ramas se supedita al del tallo en velocidad y dirección, en este fenómeno interaccionan con las auxinas (21).

Otros efectos como el promover la formación de órganos, la germinación etc. Probablemente se derivan de los efectos primarios. Como sucede con las otras hormonas, las citocininas activan también el transporte de nutrientes (21).

3.1.36. EFECTOS DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO

La dependencia hacia la auxina, que mostraron los ápices de las tres especies es coincidente con los resultados obtenidos por Smith y Murashige (1970) quienes trabajaron con ápices y meristemos de varias angiospermas. Estos autores determinaron que la provisión de auxina es esencial para el desarrollo de estos tejidos, a, que mostraron los ápices de las tres especies en coincidente con los resultados obtenidos por Smith y Murashige (1970) quienes trabajaron con ápices y meristemas de varias angiospermas, estos autores determinaron que la provisión de auxina es esencial para el desarrollo de estos tejidos, y concluyeron que el meristema apical no es por sí mismo una fuente de auxina sino que este regulador parece ser producido por los primordios foliares y las hojas más jóvenes (19, 21).

Respecto al nivel de kinetina (Bhojwani y Razdan, (1983) y Sabed y Murashige (1977) y Smith y Murashige (1970) concuerdan con que la citosina exógena es innecesaria y que la independencia de los ápices hacia ésta se debe a que el tejido posee un adecuado nivel endógeno.

Los resultados de la prueba de sanidad permiten considerar el cultivo in vitro de ápices como un medio eficiente para limpiar plantas afectadas por el virus del mosaico de la malanga que es la principal limitante para el cultivo de las aráceas comestibles en Costa Rica. El comportamiento de las plantas durante el proceso de aclimatación a condiciones no estériles fue adecuado, obteniéndose un 95% de éxito en el trasplante al invernadero. Este resultado obedeció principalmente a la rusticidad característica de las aráceas, al uso de un sustrato permeable que no permitió pudriciones radicales y al mantenimiento de una alta humedad relativa durante los días posteriores al trasplante. El último aspecto es importante ya que las plantas presentan características que las hacen sensibles a la pérdida de agua, como es poseer grandes espacios intercelulares en el mesófilo de empalizada baja frecuencia de estomas y una disminución o ausencia total de ceras en la cutícula de las hojas.

En micropropagación, principalmente se utilizan citocininas y auxinas como reguladores de crecimiento. Lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas (19, 21).

3.1.37. PROPAGACIÓN DE YEMAS APICALES Y/O LATERALES

La yema constituye un punto de crecimiento formado por un conjunto de células meristemáticas en constante división, situación que favorece el crecimiento en corto tiempo. Este tipo de yema se obtiene de un hijo nuevo, y en la base de esta estructura se encontrarán yemas laterales lo que permite obtener varios meristemas para la siembra. Si empleamos esta técnica bajo las condiciones estériles recomendadas podemos llegar a tener grandes cantidades de plantas genéticamente iguales, aunque por la utilización de hormonas se puede inducir a mutaciones. Para garantizar que dichos materiales no presentarán variaciones, se recomienda reproducir alrededor de 10,000 plantas a partir de un meristemo, como máximo (19).

Cuadro 1. Interacción de reguladores de crecimiento.

Relación para la formación o inhibición de yemas adventicias	
Promoción	Auxinas < citocininas
Inhibición	Auxinas > citocininas
Relación para la formación o inhibición de raíces adventicias	
Promoción	Auxinas > citocininas
Inhibición	Auxinas < citocininas
Relación para la formación o inhibición de diferenciación de callos	
Promoción	Auxinas > citocininas
Inhibición	Auxinas < citocininas

3.2. MARCO REFERENCIAL

3.2.1. ANTECEDENTES SOBRE LA PROPAGACIÓN DE LA MALANGA UTILIZANDO LA TÉCNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS

Los ápices se inocularon en tubos de ensayo de 18 x 150 mm conteniendo de 15 ml del medio de Murashige y Skoog, solidificado con 0.8% de agar y suplementado con 0,4 mg/L de tiamina HCl, 05 mg/L de ácido nicotínico, 0.5 mg/L de piridoxina HCl, 100 mg/L de inositol, 3% de sacarosa, cinco niveles de ácido indolacético o (0, 10, 15, 20 y 25 mg/L) y cinco niveles de kinetina (0,0; 0,1; 0,5; 1,0 y 2,0 mg/L) para un total de 25 tratamientos y 15 repeticiones para cada una de las especies en estudio. Los ápices se incubaron

por seis meses en una cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 12 horas, una intensidad lumínica de 100 $\mu\text{E}/\text{seg}/\text{m}^2$ y a una temperatura de 26,5 °C. Los cultivos se observaron cada dos meses, evaluándose la producción de plántulas a través del tiempo de cultivo. La sanidad (presencia de virus) del material producido in vitro (350 plantas) se evaluó por el método de tinción de las inclusiones citoplasmáticas y su posterior observación al microscopio de luz descrito por Christie y Edwardson 1977 (15).

3.2.2. ESTUDIO DE LOS DIFERENTES REGULADORES DEL CRECIMIENTO EN LA FORMACIÓN DE CALLOS

El análisis de diferentes reguladores del crecimiento en la formación de callos mostró que a los 30 días de cultivo el mejor resultado se obtuvo con el tratamiento 3 (2 mg.L^{-1} 2,4-D y como explantes ápices), el cual mostró diferencias significativas con los restantes lográndose un 75% de formación de callos (20).

Resultados similares fueron obtenidos por Dottin (2000), en *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott, clon México 8, al utilizar 2 mg.L^{-1} de 2,4-D y ápices como explante (20).

Los resultados obtenidos en este epígrafe con respecto al efecto del 2,4-D sobre la inducción de los callos se deben a que, cuando éstos se ponen en contacto con la auxina, el hidrógeno es excretado hacia la pared celular, lo cual conduce a la descomposición de los lípidos y a la acidificación de la misma, y la ruptura de los puentes de hidrógeno de la célula. Inmediatamente esta comienza a absorber iones de potasio, lo que provoca una disminución del potencial de agua en la célula de forma tal que esta penetra y la célula se expande (Dottin 2000) (20).

Presumiblemente los resultados obtenidos con la procedencia del explante es debido al alto nivel de citoquinina endógena en los tejidos de las hojas y cormo de la malanga lo que pudiera estar asociado a la falta de una respuesta en la formación de callos (20).

En las Aráceas y en general en todas las especies los callos suelen presentarse de color amarillo pálido, compacto y de apariencia nodular (Gupta, 1993, Quynh, 1999) (20).

En otras especies de monocotiledóneas se emplean dosis de auxina similares a las del presente trabajo. En la caña de azúcar la dosis de 3 mg.L^{-1} de 2,4-D y 0.5 cm de hojas enrolladas resultó adecuada para la formación de callos nodulares (Freire, 1997). Del Sol (1995) ha puesto en evidencia que la dosis de 2 mg.L^{-1} de 2, 4-D resultó la más apropiada para inducir callos en *Musa* (ABB) cultivar Bluggoe, mientras que para Gran Enano (AAA) y Parecido al Rey (AAA) los mejores resultados fueron con 4 mg.L^{-1} . Estas respuestas diferentes entre los genotipos, hace necesario que se requiera desarrollar la tecnología adecuada para cada especie a trabajar (8).

3.2.3. ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE CUATRO GENOTIPOS DE ÑAMPÍ (*Colocasia esculenta* var. *antiquorum*)

Cuatro genotipos de taro (*Colocasia esculenta*) se estableció y se multiplicó in vitro en Costa Rica. Un Murashige modificado y medio de Skoog (MS) más 25 mg/l de ácido indolacético (IAA) fue usado establecer y desarrollar las plantas. Un medio de MS que contiene 0.05 mg/l IAA y 1 benzyladenina del mg/l (BA) se usó para su multiplicación. Plante la proporción de la regeneración varió entre 76% y 88%. El número de brotes por la planta, después de 7 semanas de cultura, varió entre 6.8 y 11.9 el diagnóstico del Elisa-radio-immuno-ensayo mostró que 83% de las plantas obtenidas del cormelos se infectó con virus de mosaico de dasheen, considerando que plantas que se levantan de las puntas del retoño del mismo grupo de cormelos eran virus libre (18).

3.2.4. UTILIZACIÓN A ESCALA COMERCIAL

Micropropagación: actualmente la mayoría de las especies hortícolas y ornamentales se pueden propagar “in vitro”. En el ámbito forestal, su aplicación es más restringida debido a las mayores dificultades de regeneración que presentan las plantas leñosas, pero en la actualidad se aplica en un número considerable de especies. La ventaja que se obtiene es la de poder obtener plantas genéticamente idénticas al ejemplar original en un gran número. Esta técnica conocida también con el nombre de propagación clonal se ha difundido con éxito en viveros en el campo y la industria, gracias a las metodologías e instrumental de utilización simple (14).

Esta técnica permite obtener un ahorro increíble en tiempo con respecto a las técnicas de propagación convencionales. De un fragmento de tejido de la planta de interés, puede derivarse cientos y hasta miles de plantas en tan solo unos meses (14).

La micropropagación se utiliza sobre todo en las especies que presentan dificultad en la reproducción sexual, escasa producción de semillas, o que no pueden ser autofecundadas debido a auto incompatibilidad o plantas masculinas estériles; La multiplicación “in vitro” es un recurso conveniente y a veces representa la única alternativa (14).

3.2.5. UTILIZACIÓN DE LA MALANGA

La malanga tiene utilización muy variada; los cormelos se consumen cocidos, fritos, o como harina para algunos usos. Es utilizado como sustituto de la papa en sopas o estofados. Tiene un contenido de almidón superior al de la yuca. Las hojas verdes de algunos ecotipos de malanga, con bajo contenido de oxalatos pueden consumirse cocinados como una hortaliza. (10).

3.2.5.1. USOS

En los trópicos, los cormos se consumen cocidos, también como harina para diversos usos o como frituras. Las hojas de algunas variedades contienen bajo contenido en oxalatos y se comen hervidas, como hortalizas. La malanga se usa como sustituto de la papa, en sopas o en estofados (12).

3.2.5.2. ALIMENTACION ANIMAL

El valor nutritivo de la harina de malanga fue estudiado en pollos y cerdos por Murillo, Olivares, Alonso y Bressani (1977) en El Salvador. La harina se preparó con cormelos de malanga cosechados a los 7 meses con rendimiento de 8 t/ha de materia seca y la siguiente composición química: Proteína 8.5%, g rasa 0.7%, fibra cruda 4.1%, paredes celulares 22.6% celulosa 3.7% hemicelulosa 14.1% almidón 27.4% y carbohidratos solubles 31.5 (ver cuadros 2 y 3). La harina de taro se usó como sustituto del maíz en dietas para pollos de engorde 0.-4 semanas de edad y en dietas para etapas de crecimiento, desarrollo y engorde de cerdos. En el primer caso la harina de malangas fue incluida a niveles de: 0, 15, 30, 45 o 60% de dietas que contenía 22% de proteína y que fueron suministradas a dos grupos de pollos cada una (4, 5, 20, 21).

La malanga utilizada en el estudio se cortó en rodajas y se secó sobre techos de metal por tres días. Mientras se secaba se volteaba periódicamente. Los valores nutritivos de la raíz de malanga seca comparados al maíz son impresionantes (ver cuadro 4) (19).

ANALISIS Y COMPOSICION

En el cuadro 2 se presenta el análisis de cormos de malanga (*Colocasia esculenta*) provenientes del oeste africano. En g por 100 g de porción comestible, base seca, buzón (1965) (16).

Cuadro 2. Análisis bromatológico de cormos de malanga.

COMPOSICIÓN	BASE SECA
Proteína, g	9.2
Grasa g	0.3
Fibra g	3.2
Carbohidratos g	83.7
Cenizas g	3.6
Calcio Mg	340
Fósforo Mg	190

En el cuadro 3 se presenta el análisis de cormelos de malanga (*Colocasia esculenta*) (g x 100 g de porción comestible, base húmeda (16).

Cuadro 3. Análisis alimenticio de malanga.

COMPOSICIÓN	CORMELOS CRUDOS	CORMELOS CRUDOS	HOJAS CRUDAS	PECÍOLOS CRUDOS
VALOR ENERGÉTICO.				
Kcal.	92	85	69	19
Humedad %	74.6	77.5	79.6	93.8
Proteína	1.6	2.5	4.4	0.2
Grasa g	0.2	0.2	1.8	0.2
Carbohidratos g	22.4	19.1	12.2	4.6
Fibra g	0.8	0.4	3.4	0.6
Ceniza g	1.2	0.8	2.0	1.2
Ca, Mg	96.0	32.0	268.0	57.0
P, mg	88.0	64.0	78.0	23.0
Fe, mg	1.2	0.8	4.3	1.4
Na, Mg	-----	7.0	11.0	5.0
K, Mg	-----	514.0	1237.0	367.0
Vitamina A	5.0 Mg. Tz.U1	20385 U1	20385 U1	335 U1
Tiamina Mg	0.08	0.18	0.10	0.01
Riboflavina Mg	0.04	0.04	0.33	0.02
Niacina Mg	0.07	0.9	2.0	0.2
Ac ascórbico Mg	7.0	10.0	142.0	8.2
Cáscara o porción no comestible	16.0	19.0	45.0	16.0

3.2.5.3. ALIMENTACIÓN HUMANA

Con el cormelo de malanga se prepara: “poi” (pasta fresca o fermentada) harinas, pastas (spaghetti), polvo para bebidas, hojuelas. El “poi” es fácilmente digerible y no alergénico (16).

El “poi” se prepara en Hawaii de cormos de malanga cocidos, pelados, lavados y molidos hasta formar una pasta de color gris-marrón, la que a veces se somete a un ligero proceso de fermentación(16).

Cuadro 4. análisis comparativo entre malanga y maíz.

En el cuadro 4.se muestra una tabla de comparación entre malanga y maíz para alimentación animal.

Composición aprox. (%)	Proteína cruda	Fibra cruda	Energía metabolizable (Kcal.)	Ca	P	lisina
Malanga	28.3	18	18,560	0.66	1.27	37
Maíz	12.5	4	4,718	0.028	0.41	3.8

3.2.5.4. ASPECTOS DE AGROINDUSTRIALIZACIÓN A PEQUEÑA ESCALA

Los cormos se comercializan para consumo directo, sin embargo, podría ensayarse la industrialización similar a la del taro en harinas, "chips", alimentos preparados para niños y otros (12).

3.2.5.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA POTENCIAL Y COMERCIALIZACIÓN

El mercado en los países amazónicos está principalmente en las poblaciones ubicadas en la región. No obstante, existe potencial para exportar a EE.UU. y otros países desarrollados, como lo hacen Costa Rica y Puerto Rico. Asimismo, existe potencial para industrializar los cormos y comercializar en estos mercados (12).

3.2.5.6. VENTANA DE MERCADO

En América el cultivo de malanga se efectúa en Venezuela, en las Islas del Caribe y algunos países de América Central, presentando gran disponibilidad de parte de Florida, Puerto Rico y la República Dominicana. Las importaciones de malanga en EEUU se han incrementado, siendo los países de la Cuenca del Caribe los que suministran casi todo el producto a dicho mercado (22).

Las exportaciones se pueden realizar en fresco, congelado o procesado como harina o como fritura. La malanga es admisible a EEUU procedente de Guatemala, pero es importante obtener un permiso de importación extendido por el Departamento de Agricultura de EEUU, el cual es un trámite realizado por el broker o importador (1, 12, 22).

3.2.5.7. FORMAS DE EXPORTACIÓN

Las exportaciones de malanga se efectúan en producto fresco, congelado o procesado como harina o frituras (10).

3.2.5.8. TAMAÑO APROPIADO DEL PRODUCTO PARA EXPORTAR

Debe ser larga, café y fresca en apariencia. Los cormelos deben tener la cáscara intacta y libre de enfermedades. Su tamaño de no más de 25 cm. de largo y 5 cm. de ancho y su peso de 100 a 150 grs. con un contenido no menor de proteínas de un 2 % y de carbohidratos de un 26 % que demanda el mercado externo (18).

3.2.5.9. PAISES IMPORTADORES

Estados Unidos, Europa, (Holanda, Francia y Alemania) y Asia y Japón. Países de destino: Durante el período de 1997 a 1998, (1, 19)

3.2.5.10. PAISES EXPORTADORES.

Los principales países exportadores de malanga son Costa Rica, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Puerto Rico, Hawaii, Jamaica, Venezuela, Honduras, México y Filipinas. (Ver figura 1)

Las diferentes variedades cultivadas y comercializadas se diferencian principalmente por el color (malanga blanca, lila o morada y eddoes), sin embargo, todas las variedades son similares en el sentido de que son cilíndricas, pulpa amarilla, peso promedio de 2 a 4 libras, sin deformaciones o daños físicos. Costa Rica es el principal país exportador de la región con alrededor de 8,031 hectárea de área cultivada, que representan una producción promedio actual de 80,310 toneladas métricas, aunado a que el país manifiesta un incremento anual de producción potencial del 10%. Costa Rica exportó malanga a 17 países localizados en Norteamérica, Europa, América del Sur y el Caribe; Nicaragua realizó sus envíos principalmente a los mercados de Puerto Rico, Estados Unidos y Costa Rica. Panamá sólo a Estados Unidos de Norteamérica (12).

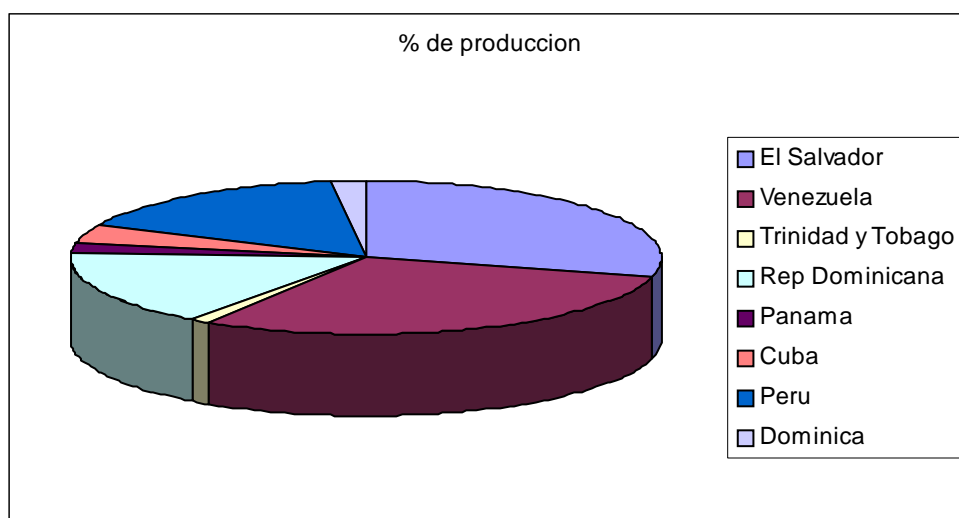


Fig. 1. producción de malanga en América dado en % (Fuente FAOSTAT, 1999)

4. OBJETIVOS

GENERAL

1. Establecer la metodología más adecuada para la multiplicación *in Vitro* para la inducción de brotes de malanga (*Colocasia esculenta* S) utilizando yemas axilares.

ESPECIFICOS

1. Determinar la combinación de ácido indolacético y cinetina más adecuado para inducir brotes en cultivo *in Vitro* de malanga.
2. Determinar la combinación de ácido indolacético y cinetina más adecuado para inducir el mayor número de hojas por brote en cultivo *in Vitro* de malanga.
3. Determinar la combinación de ácido indolacético y cinetina más adecuado para inducir la mayor longitud de brote en cultivo *in Vitro* de malanga.
4. Determinar el efecto de la L-arginina para la inducción de raíces en brotes de malanga.
5. Determinar la combinación de ácido indolacético y cinetina más adecuado para inducir raíces en cultivo *in Vitro* de malanga.

5. HIPÓTESIS

1. Los medios basales sin reguladores no inducirá a la formación de brotes de malanga (*Colocasia esculenta* S).
2. Utilizando una mayor dosis de ácido indolacético y cinetina se producirán mayor número de brotes con un mayor número de hojas e inducirá a la longitud mayor por brote de malanga (*Colocasia esculenta* S).
3. A mayor dosis de ácido indolacético y cinetina con el aminoácido L-arginina se inducirá al mayor número de raíces con una longitud mayor por brote de malanga (*Colocasia esculenta* S).
4. El uso de L-arginina inducirá en los medios de cultivo un mayor número de raíces con mayor longitud por brote de malanga (*Colocasia esculenta* S)

6. METODOLOGÍA

6.1. Localización

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, localizado en la zona 12 de la Ciudad Universitaria, Guatemala.

Temperatura.....25 Grados centígrados.

Humedad Relativa.....75%,

Fotoperíodo.....16 horas de Luz y 8 de oscuridad.

Intensidad lumínica.....2000 lux

6.2. MATERIAL Y EQUIPO.

-Instrumentos de disección.

Mangos para bisturí No. 3 y 4

Hojas de bisturí No. 10

Pinzas punta fina

Pinzas punta redonda

Pinzas largas para siembra

-Cristalería.

Beakers de 100 ml y 1000 ml.

Probetas de 100 ml.

Balones aforados de 100 ml y 1000 ml.

Pipetas serológicas de 1 y 10 ml

Envases de cultivo de 100 ml.

-Balanza Analítica

-Potenciómetro

-Agitador magnético con hornilla.

-Magnet

-Autoclave

-Refrigeradora

-Cámara de flujo laminar

-Mechero de alcohol

OTROS

Agua destilada

Alcohol etílico al 95%

Alcohol etílico al 70 %
Algodón
Parafilm
Papel aluminio
Toallas de papel
Bandejas
Platillos para pesar reactivos
Pisetas con agua destilada
Masking tape normal
Marcador indeleble
Cerillos
Plástico autoadherible
Plancha de vidrio para disección

6.3. MANEJO DEL EXPERIMENTO

6.3.1. SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Se seleccionaron los cormos que presentaron el mayor número de yemas axilares desarrolladas, sin la presencia de clorosis, presencia de manchas foliares que nos indique la presencia de virosis ni daños al corno por parte de bacterias tales como pudrición, heridas o malformaciones.

6.3.2. MANEJO DE LAS PLANTAS MADRE

Una vez seleccionadas la plantas se removieron las hojas viejas, y se lavaron en una solución de jabón y cloro, luego se llevaron al lugar de cultivo en un área desinfectada.

Se colocaron los cormos en un suelo desinfectado con agua caliente y una solución de clorotalonilo al 60% de concentración y Cuprimicin (Streptomycin y cuprimicina) al 75%.

Luego se cultivaron por 35 días mientras se preparaban el medio, se les dio un tratamiento de desinfección con una aplicación al suelo y al follaje de Mancozeb, cuprimicina, clorotalonilo durante esos 35 días, realizándola con un intervalo de aplicación de cada 3 días.

6.3.3. SELECCIÓN DE YEMAS PARA EL ESTUDIO

Una vez establecido y desinfectadas las plantas se tomaron las yemas axilares en estados no desarrollados, se extrajeron del cormo con una pequeña porción del mismo, utilizando navajas desinfectadas con cloro al 5% de concentración.

6.3.4. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Una vez elaborado el medio basal se procedió a preparar los medios de cultivo y distribuirlos a los envases de cultivo.

De las soluciones madres se extrajeron las cantidades necesarias para las mezclas deseadas donde luego se les aplicó las dosis de auxinas (ácido indolacético) y citocininas (cinetina), se realizó de acuerdo a la cantidad de medios preparados por día (ver anexos). Para el medio del cultivo suplementado se le aplicó 500 ppm de L-arginina.

En cada envase se colocó 7 ml de medio de cultivo.

Posteriormente los medios con gelificantes se esterilizaron en autoclave a 121 grados centígrados, durante 20 minutos a una presión de 103.4 kP (15 libras por pulgada cuadrada).

6.3.5. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIÓN MADRE

Se preparó la solución madre (solución stock) en las concentraciones descritas por Murashige y Skoog para la normal y para la suplementada. Para preparación de las soluciones que contienen los macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y soluciones de hierro, las cuales se presentan en los anexos, utilizando la metodología propuesta por el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Facultad de Agronomía.

6.3.6. MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR

Los medios de cultivos que se evaluaron son el de Murashige & Skoog y Murashige & Skoog suplementado. Los medios de cultivo se prepararon ocho días antes de realizar la siembra, habiéndolos colocado en 120 tubos de ensayo respectivamente con 7 ml de medio cada uno con las distintas combinaciones de auxinas y citocininas.

6.3.7. DESINFECCIÓN

Se tomaron los cormos y se les lavó con agua y jabón, luego del lavado se extrajeron las yemas y se depositaron por un período de 24 hrs. en una solución desinfectante de dos funguicidas benomyl, oxiclóruo de cobre y estreptomicina; luego se realizó un lavado con alcohol etílico al 95% y 70%, y se utilizó hipoclorito de sodio, con 5.25 % de ingrediente activo. La efectividad de estos materiales es esencialmente

una respuesta de tiempo-dosis en la cual la efectividad para desinfectar aumenta con ambos factores, pero la capacidad para dañar tejidos también aumenta, por ello se les estuvo dejando durante 5 a 15 minutos. Luego se escurre la solución y el material se enjuaga 2 ó 3 veces con agua estéril.

Los recipientes de cultivo contaminados se esterilizan en la autoclave sin destaparlos para evitar contaminar el laboratorio.

6.3.8. DISECCIÓN

Se extrajeron los ápices foliares con pequeñas porciones de cormo, con el bisturí en la cámara de flujo laminar con la ayuda de pinzas,

Este procedimiento se hizo removiendo de los ápices las hojas que las recubren, dejando la yema al descubierto.

6.3.9. TRANSFERENCIA

El área de transferencia es la campana con flujo de aire laminar que tiene un lado abierto en la cual se pasa aire filtrado de la parte posterior de la campana hacia fuera con un gradiente de presión positivo.

1. Quemador para esterilizar los instrumentos de disección y los recipientes, el cual fue un quemador de alcohol etílico al 95%.
2. Pinzas para sostener y manipular el tejido vegetal.
3. Bisturí número 3 y 4 para disección con los que se hizo los cortes en las yemas.
4. Cajas de Petrí estériles para colocar el material y cortarlo.

6.3.10. PREPARACIÓN DE EXPLANTE

6.3.10.1. Desinfección previa

Se realizó un lavado de los explantes con cloro al 0.5% de concentración durante 3 min. Luego se enjuagaron con agua esterilizada, se colocaron unos 2 min. después otro enjuagué con agua esterilizada, después se de colocaron en una solución de 150 ppm de ácido cítrico como antioxidante y por último se remojó en una solución de Maconzeb de 300 ppm, cuprimicin a 250 ppm, oxicloruro de cobre a 150 ppm y clorotalonilo al 15% de concentración después se procedió a la siembra. (Ver anexos)

6.3.11. SIEMBRA

Al ser extraídas las yemas foliares, se realizó la siembra en los medios de cultivo para la formación de brotes, colocando 1 inóculo por tubo de ensayo.

Los escalpelos, agujas y otros instrumentos de disección se colocan en su sitio, por lo común sobre apoyos. Las cajas de petri estériles se colocan en la cámara para usarlas como charolas de trabajo. Asimismo se incluyen recipientes con agua estéril y con el medio de cultivo, para usarlos según se vayan necesitando. Estos recipientes se mantienen al frente del área de trabajo, de tal manera que se pueda llegar hasta cierta área “estéril” de la parte posterior de la cámara. Las superficies externas de los recipientes deben limpiarse con un desinfectante. Ocasionalmente se pueden colocar recipientes con el medio de cultivo en anaqueles o en carros móviles, en la cercanía de la cámara de transferencia.

Al preparar los explantes para su transferencia, las puntas de los implementos se sumergen en alcohol y se flamean antes de usarlos. Este paso se repite después de haber manejado cierta cantidad de material o antes de cambiar a un nuevo material de explante. (Ver anexos)

6.3.12. INCUBACIÓN

Se mantuvo dentro del cuarto de incubación, con un fotoperíodo de 24 horas luz con una intensidad lumínica de 10,000 lux de intensidad, con temperaturas medias de 10 a 15 grados centígrados, los tubos se mantuvieron sobre un bandeja de germinación con un distancia de 1 cm entre cada uno. (Ver anexos)

6.3.13. ESTABLECIMIENTO

La función de esta etapa es establecer al explante en el medio de cultivo e inducir el desarrollo de brotes múltiples lo que implica: a) la estimulación b) la formación de brotes en material vegetal proveniente del corno como yemas c) promover la iniciación de formación de callo en superficies cortadas. (Ver anexos)

6.3.14. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para organizar, tabular y analizar los datos se utilizó el diseño estadístico completamente al azar combinatorio con arreglo bifactorial. El modelo estadístico es el siguiente. (5)

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_j + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta número de brotes formados, longitud de brotes, numero de hojas por brote, número de raíces y longitud de raíces.

μ = Media general

τ_i = i-ésimo tratamiento de las combinaciones de auxinas y citocininas.

β_j = j-ésimo tratamiento que es los medios de cultivo A) Murashige y Skoog (MS), B) Murashige y Skoog suplementado (MSS)

E_{ij} = Error experimental.

Número de repeticiones = 10

Número de Unidades Experimentales = 120

6.3.15. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para los procesos se utilizaron tubos de ensayo de vidrio con las medidas de 150 mm. x 25 mm. el cual sirvió para contener una porción de tejido de 0.5 mm de diámetro. Tomándose como unidad experimental cada tubo de ensayo con el medio de cultivo nutritivo en el cual se colocó la porción de tejido vegetal, sin la presencia de yemas foliares. A partir de 120 tubos de ensayo en los cuales se aplicó cada una de las cinco diferentes combinaciones de auxinas y citocininas para determinar cual de las combinaciones daba la mayor obtención de brotes. (Ver anexos)

6.3.16. TRATAMIENTOS

Los tratamientos fueron 10 de los cuales se hicieron 10 repeticiones, más dos testigos a los cuales no se les aplicó ninguna dosis de regulador del crecimiento. Sumando un total de 120 unidades experimentales para contar el número de brotes formados, los cuales se detallan en los cuadros 5, 6.

Cuadro 5. Forma de los tratamientos con las concentraciones en ppm de los reguladores del crecimiento.

Tratamiento	Medio de cultivo	Ácido indolacético (ppm)	Cinetina (ppm)
Testigo (1)	MS	0	0
1	MS	0.15	1.0
2	MS	1.5	1.5
3	MS	10	0.1
4	MS	15	0.5
5	MS	20	2.0
Testigo (2)	MSS	0	0
6	MSS	0.15	1.0
7	MSS	1.5	1.5
Continuación cuadro 5.	MSS	10	0.1
9	MSS	15	0.5

10	MSS	20	2.0
----	-----	----	-----

Tomados de (2, 10, 16) Como las combinaciones que brindaron mejores resultados:

En cuadro 6. se presenta la combinación de los tratamientos. (AC: dosis de Ácido indolacetico y citosina, MS: Murashige y Skoog, MSS: Murashige y Skoog suplementado medio a utilizar)

	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5
MS	MSA1	MSA2	MSA3	MSA4	MSA5
MSS	MSSA1	MSSA2	MSSA3	MSSA4	MSSA5

6.3.17. ALEATORIZACION

Los tratamientos se aleatorizaron dentro del experimento, de la manera siguiente: Se Sorteó el orden de siembra y colocación de cada medio de cultivo dentro del laboratorio.

6.3.18. VARIABLES DE RESPUESTA

Las variables estudiadas fueron el número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote, número de raíces y longitud de raíces

1. Número de brotes: se realizó un conteo de los brotes formados a los 150 días
2. La longitud de los brotes: se midió en cm a los 150 días.
3. Conteo de hojas: se contó el numero de hojas por brote a los 150 días
4. Número de raíces: se realizó un conteo de las raíces a los 150 días
5. Longitud de raíces: se midió en cm a los 150 días.

6.3.19. ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

Se realizó un análisis de varianza por variable cuantitativa de respuesta del experimento, según el modelo escogido por las características del lugar de investigación; el modelo tomado es el de completamente al azar con arreglo bifactorial, en los casos con diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey el 5%.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó la formación de los brotes de malanga a los 45 días de la siembra al cual se identificó con el desarrollo de las yemas y se observó una coloración color verde normal con un tamaño promedio de 0.5 cm de alto por 0.2 cm de diámetro, a los 50 días surgieron las primeras hojas en cada uno de los brotes algunos desarrollaron dos aumentando su tamaño a 0.8 cm de alto con un diámetro de 0.5 cm. en promedio, aunque los resultados finales fueron tomados a los 150 días de la siembra.

Número de brotes de malanga a los 150 días:

El análisis de varianza para la variable de número de brotes no mostró diferencias estadísticamente significativas para cada uno de los tratamientos (cuadro 7.) con las combinaciones de ácido indolacético y cinetina para la formación de los mismos.

Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable de respuesta número de brotes.

Fuente de variación	SC	Gl	CM	Fc	Pr > F	
Dosis	1.8	5	0.36	0.10	4.4225	NS
Medio de cultivo	0.03	1	0.03	0.009	252.95	NS
Interacción	2.27	9	0.25	0.07	2.78	NS
Error	363.6	105	3.46			
Total	367.7	119				

CV = 28.18 % ** diferencias altamente significativas. * Diferencias significativas. NS no significativo (>5%) A dicha prueba de análisis de varianza se le verificó realizándola con un alfa de 1 % de error la cual concluyó en lo mismo no hay diferencias significativas en función a la variable de respuesta

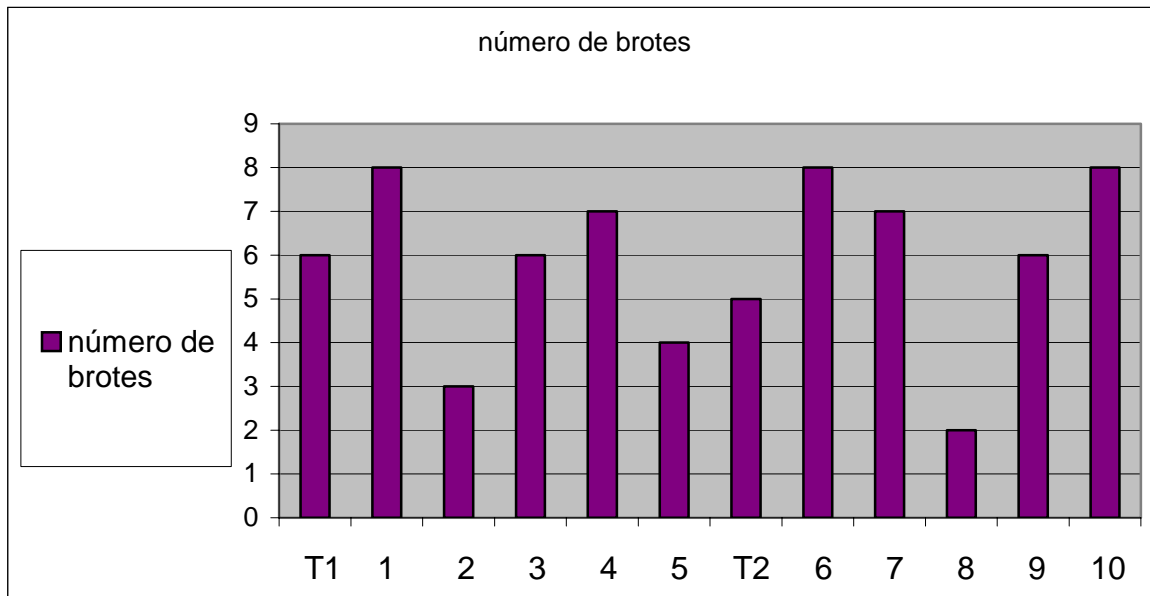


Figura 2. Promedio de número de brotes de malanga por tratamientos a los 150 días.

En la figura 2 donde se observan los totales de formación de brotes de malanga, se puede observar que los tratamientos 1, 6 y 10 son los que presentan el total más alto 8 brotes de diez luego le siguen los tratamientos

4 y 8 con un total de 7 de diez y por último el Testigo 1, 3 y 11 con un total de seis de diez, por lo que se recomiendan los primeros tres.



Fig 3. Formación de brotes de malanga a los 45 días.



Fig 4. Proceso de desarrollo y crecimiento de los brotes de malanga. a los 60 días.

Número de hojas por brote de malanga a los 150 días:

El análisis de varianza para la variable de respuesta número de hojas por brote (cuadro 8.) mostró que no hay diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos realizados con las cinco combinaciones de auxinas y citocininas ni con los dos medios basales ni para la interacción de medio basal con dosis de auxina y citosina.

Cuadro 8. análisis de varianza para la variable de respuesta numero de hojas.

Fuente de variación	SC	Gl	CM	Fc	Pr > F	
Dosis	9.2	5	1.84	0.91	3.78	NS
Medio de cultivo	16.13	1	16.13	8.02	63.06	NS
Interacción	44.45	9	9.39	4.47	4.50	NS
Error	217.9	108	2.01			
Total	289.03	119				

C.V. = 30.21 % ** diferencias altamente significativas. * Diferencias significativas. NS no significativo (>5%). A dicha prueba de análisis de varianza se le verificó realizándola con un alfa de 1 % de error la cual concluyó en lo mismo no hay diferencias significativas en función a la variable de respuesta

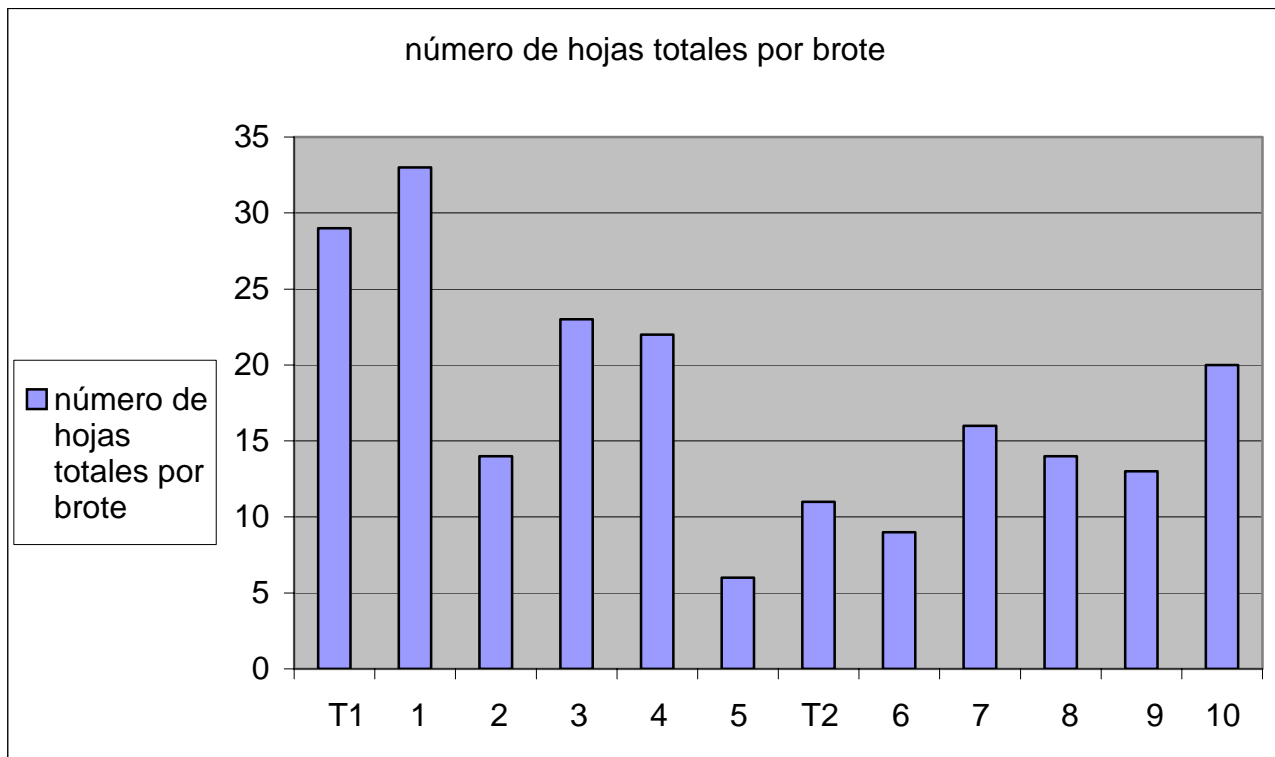


Figura 5. Promedios de número de hojas por tratamiento.

En la figura 5 se muestran los promedios del mayor número de hojas por brote de malanga de cada uno de los tratamientos realizados donde se ve que los tratamientos 1, 4, 8, 10 y el testigo 1 fueron los mas altos.



Fig 6. La formación de hojas por brote de malanga a los 60 días

Longitud de brote en cm de malanga a los 150 días:

En la variable de respuesta de longitud de brotes por tratamiento el análisis de varianza no muestra diferencias significativas en las dosis de auxinas y citocininas ni el medio basal evaluado

Cuadro 10. Análisis de varianza para la variable de respuesta longitud de brotes

Fuente de variación	SC	Gl	CM	Fc	Pr > F	
Dosis	13.40	5	2.68	0.09	4.4225	NS
Medio de cultivo	24.115	1	24.115	0.83	252.95	NS
Interacción	13.96	9	28.91	0.053	2.78	NS
Error	3035.52	105				
Total	3087.67	119				

CV = 19.55 ** diferencias altamente significativas. * Diferencias significativas. NS no significativo (>5%).

A dicha prueba de análisis de varianza se le verificó realizándola con un alfa de 1 % de error la cual concluyó en lo mismo no hay diferencias significativas en función a la variable de respuesta

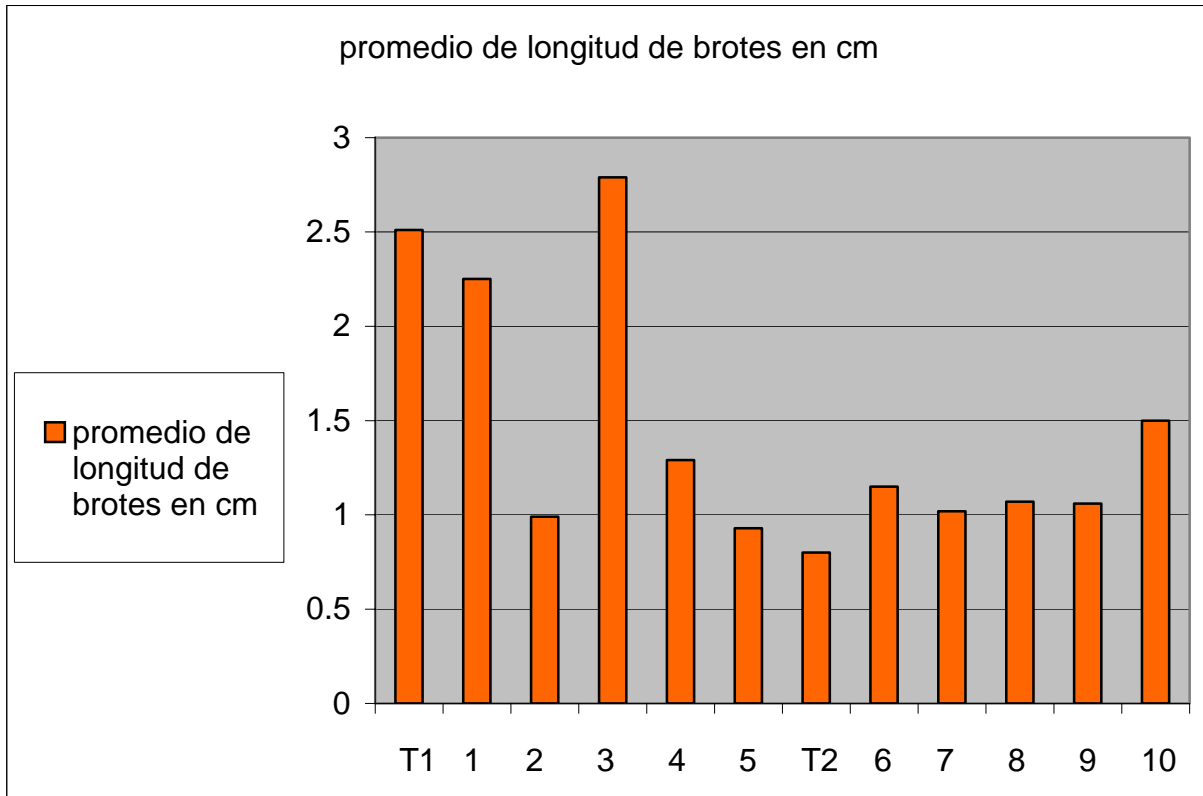


Figura 7. Promedios de longitud de brotes por planta de malanga.

En la figura 7 se observa que los tratamientos Testigo 1, 1 y 3 son los que poseen las medias más altas con respecto a los demás tratamientos que poseen unas medias muy parecidas.



Fig 8. Se observa las longitudes de los brotes de malanga.

Número de raíces por brote de malanga a los 150 días:

Para la variable de respuesta de número de raíces por brote de malanga se observó que el análisis de varianza (cuadro 9.) se observa que no hay diferencias significativas entre los tratamientos de dosis de auxinas y citocininas, tampoco hay diferencia significativa en los medios basales evaluados, ni en la interacción medio basal dosis de auxina y citocinina.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable de respuesta número de raíces.

Fuente de variación	SC	Gl	CM	Fc	Pr > F	
Dosis	23.04	5	4.61	1.46	4.4225	NS
Medio de cultivo	2.41	1	2.41	0.76	252.95	NS
Interacción	14.84	5	2.96	0.93	4.4225	NS
Error	341.3	108	3.16			
Total	381.59	119				

C.V. = 37.26 ** diferencias altamente significativas. * Diferencias significativas.

NS no significativo (>5%). A dicha prueba de análisis de varianza se le verificó realizándola con un alfa de 1 % de error la cual concluyó en lo mismo no hay diferencias significativas en función a la variable de respuesta

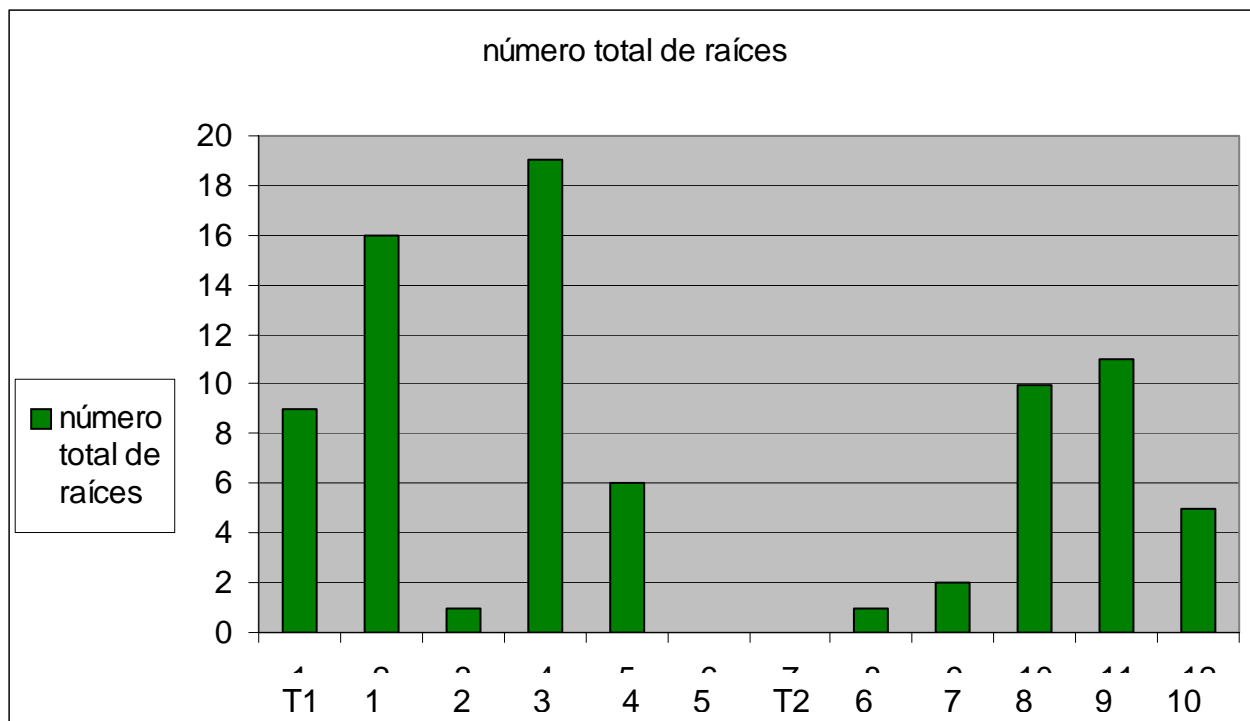


Figura 9. Promedios de número de raíces por brote.

En la figura 9 se observa los promedios de número de raíces por brote donde los tratamiento 1 y 3 presentaron el mayor número de raíces por brote, en segunda posición lo ocupan los tratamientos 1,10 y 11.

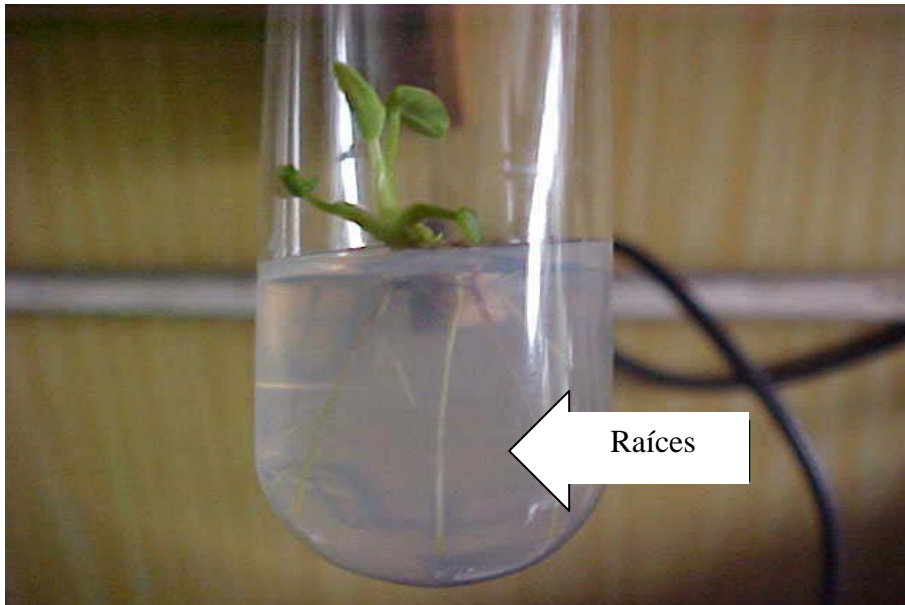


Fig 10. Se observa las raíces formadas en los brotes. A los 95 días.

Longitud de raíces en cm. por brote de malanga a los 150 días:

En el análisis de varianza con la variable de respuesta de longitud de raíces en cm, se observa que no presenta diferencias estadísticamente significativas, con la interacción de ácido indolacético y cinetina, el efecto de la L-arginina para inducir la formación de raíces no causo diferencia significativa en la interacción de medios de cultivo y dosis de reguladores.

Cuadro 11. Análisis de varianza de la variable de respuesta de longitud de raíces en cm.

Fuente de variación	SC	Gl	CM	Fc	Pr > F	
Dosis	48.48	5	9.70	0.78	4.4225	NS
Medio de cultivo	8.32	1	8.32	0.67	252.95	NS
Interacción	3.56	9	0.40	0.032	2.78	NS
Error	1314.2	105	12.51			
Total	1374.56	119				

CV = 24.17 ** diferencias altamente significativas. * Diferencias significativas. NS no significativo (>5%).

A dicha prueba de análisis de varianza se le verifico realizándola con un alfa de 1 % de error la cual concluyo en lo mismo no ha diferencias significativas en función a la variable de respuesta

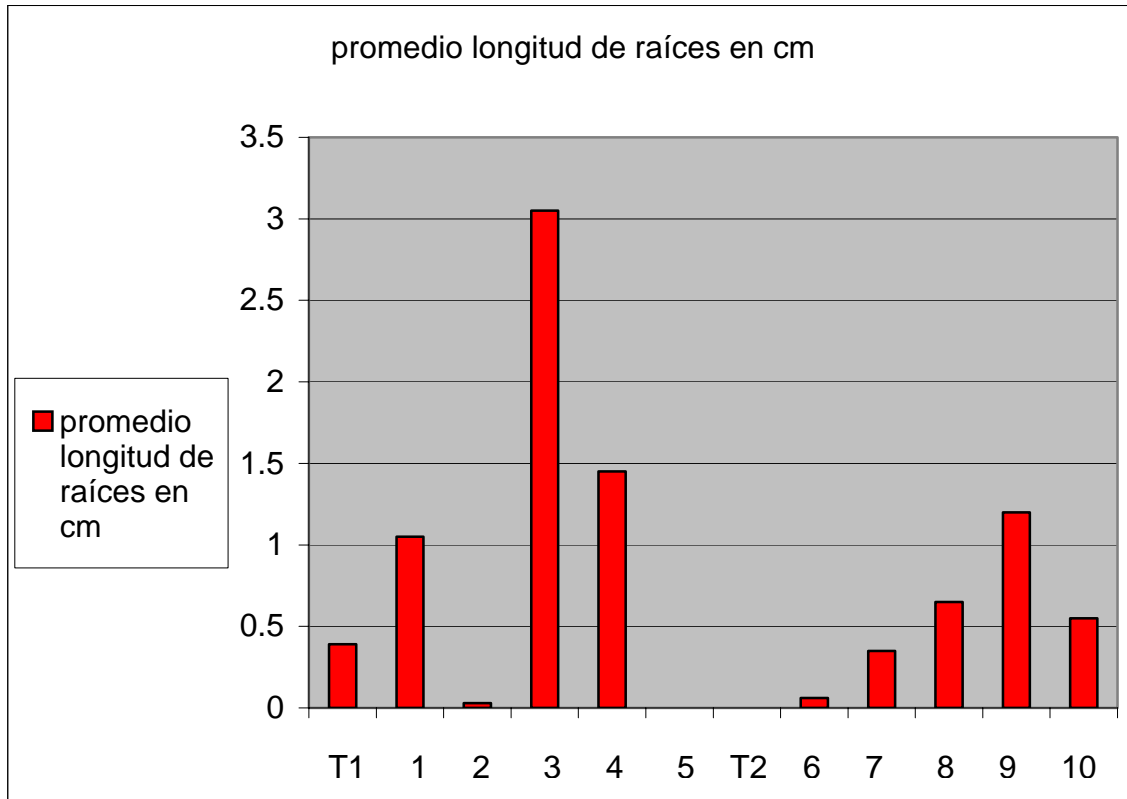


Figura 11 de medias de longitudes de raíces por brote de malanga.

En la figura 11. Se observan las medias de la longitud de raíces en cm, donde el tratamiento de 3 presenta la media más altas, le siguen los tratamientos 1 y 9 con las siguientes medias, por lo que se recomienda estos tres tratamientos.

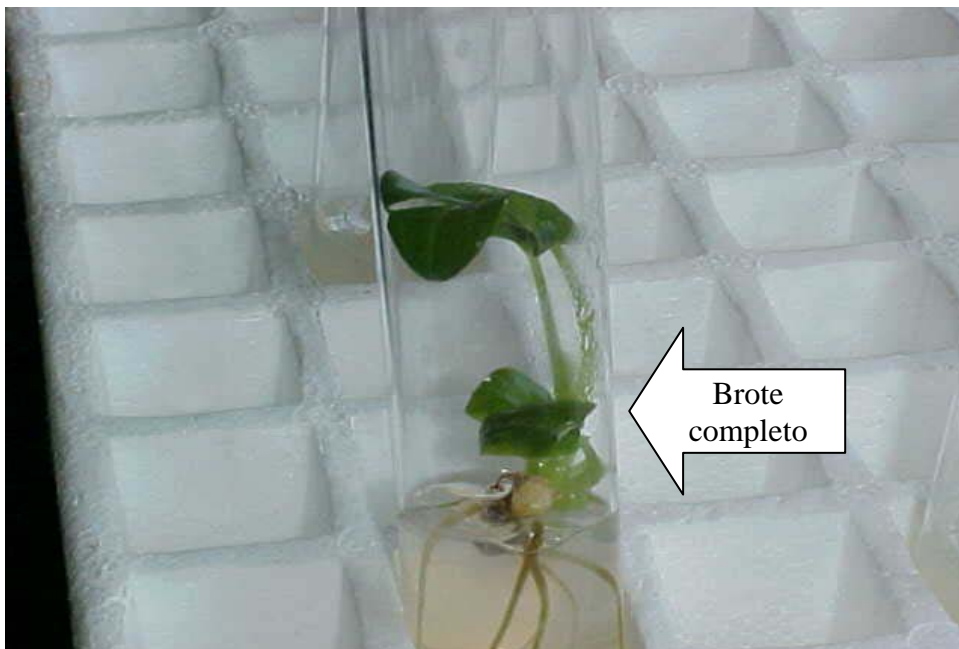


Fig 12. Brote de malanga con raíces (*Colocasia esculenta* S) a los 120 días

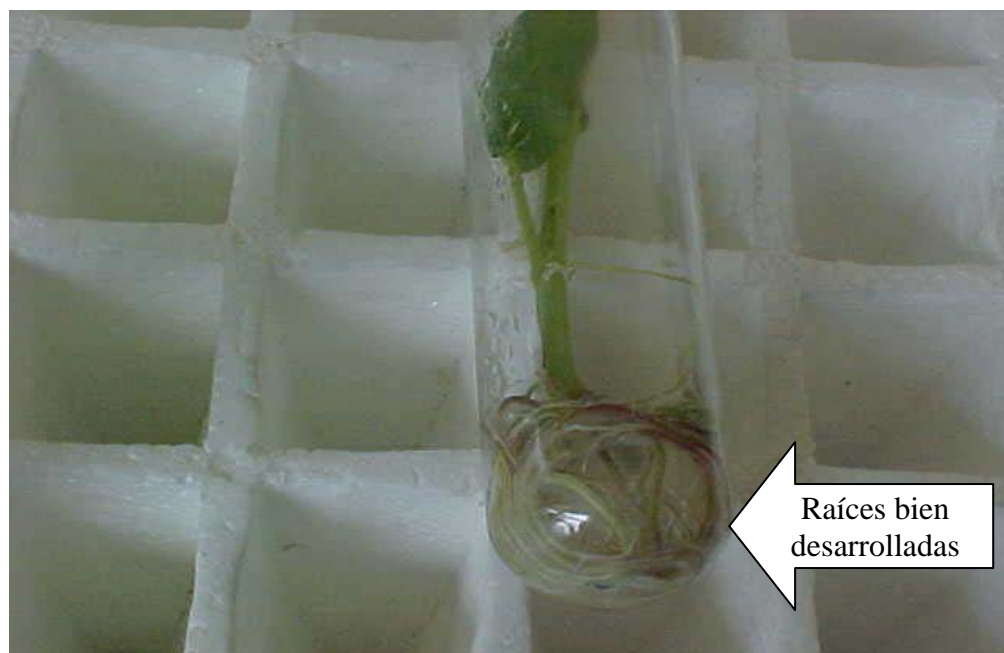


Fig 13. Raíces desarrolladas de los brotes de malanga tomada a los 140 días

Resultados similares fueron obtenidos por Monge, Arias y Ramírez (1987) (11) con los mismos reguladores del crecimiento ellos reportan que la utilización de auxinas es el mas apropiado para el desarrollo de los brotes de la malanga y que las concentraciones altas de cinetina inhibe la formación y desarrollo de los brotes de malanga pero en el estudio presente se evaluaron dosis de cinetinas mas baja que las reportadas por ellos. Al igual que Santos, García y López que reportan que Dottin (2000) utilizo auxinas en su ensayo con una dosis de 2 ppm de 2-4D y ápices como explantes, con dosis bajas de cinetinas o ninguna ayudan a la formación de brotes de malanga.

Ya que las auxinas se localizan en las hojas jóvenes y áreas meristematicas y cuyo efecto con los otros reguladores ayuda a promover la desdiferenciación celular lo que genera hojas nuevas, ya que se sembraron yemas axilares estas contienen auxinas ya que son tejidos meristematicas por ello el tratamiento con 0 dosis de reguladores si produjeron hojas al igual que el tratamiento con la dosis mas alta de auxinas 8 ppm.

La longitudes de los brotes al igual que el número de brotes coincidió en los resultados de Monge, Arias y García que ellos reportaron que las dosis de auxinas mas altas de 10 ppm y 25 ppm con 0 ppm de cinetina dieron lo brotes mas altos pero el presente estudio la relación de auxina mas alta y cinetina mas baja nos produjo los brotes mas largos.

Los tratamientos con la dosis mas bajas de citocininas con las que presenta como las relaciones presentadas en la literatura que a mayor concentración de auxinas y menor citocinina las raíces adventicias se desarrollan mas rápidamente como la citan Santos, García y López que los mejores resultados fueron con auxinas y que el efecto de la cinetina no causo efectos significativos.

Como los resultados presentados por los autores ya mencionados las longitudes de la raíces están afectadas por la relación de el ácido indolacetico y la cinetina que entre mas alta la dosis de auxina y mas baja la dosis de citocinina ya que la cinetina solo se encarga de la división celular pero las auxinas se encargan de la elongación de las células y la desdiferenciación.

8. CONCLUSIONES

1. En este estudio se llegó a determinar que las diferencias entre las concentraciones y combinaciones de estos reguladores no es significativa, ya que el tratamiento que presentó las medias más altas fue de la dosis de 0.15 ppm de ácido indolacético y con 1.0 ppm de cinetina sin L-arginina.
2. Estadísticamente no hay diferencias significativas entre los doce tratamientos, aunque los tratamientos con las medias más altas fueron los que obtuvieron 8 brotes de cada diez con (0.15 ppm de ácido indolacético y 1 ppm de cinetina), con (0.15 ppm de ácido indolacético y 1 ppm de cinetina suplementado con L-arginina) y con (20 ppm de ácido indolacético y 2 ppm de cinetina suplementado con L-arginina).
3. Los tratamientos que presentaron los resultados más altos son el de 0 ppm de AIA y 0 Ki, 0.15 ppm AIA y 1 ppm Ki y con 20 ppm AIA y 2 ppm Ki suplementado con L-arginina con una media de 3 hojas por brote.
4. Los tratamientos con 0.15 ppm de ácido indolacético y 1 ppm de cinetina, con 10 ppm de ácido indolacético y 0.1 ppm de cinetina y con 0 ppm de ácido indolacético y 0 ppm de cinetina aunque no se encontraron diferencias significativas en los diferentes.
5. El uso de L-arginina para inducir la formación de raíces no causó el efecto deseado ya que los tratamientos no presentaron diferencias que estadísticamente prueben la efectividad de ciertas mezclas.
6. Los tratamientos que presentaron las medias más altas en función al número de raíces por brote fueron con las dosis de 0.15 ppm AIA y 1 ppm Ki, 10 ppm AIA y 0.1 ppm Ki y 15 ppm AIA y 0.5 ppm Ki con un promedio de 2 raíces por brote.
7. El tratamiento que presentó la media más alta en función a la longitud de raíces por brotes fue el de la dosis de 10 ppm AIA y 0.1 ppm Ki.
8. El tratamiento más efectivo fue el de con la dosis de 0.15 ppm AIA y 1 ppm de Ki, ya que presentó en todos los datos tomados (número de brotes, número de hojas, longitud de brote, número de raíces y longitud de raíces), esta entre todas las medias más altas del estudio.

9. RECOMENDACIONES

1. Realizar más pruebas con otros aminoácidos para ver cuáles son los resultados obtenidos con cada uno de los tratamientos aquí propuestos, además de probar diferentes aminoácidos se deben realizar pruebas con otros reguladores del crecimiento como el IBA y ANA para poder ver sus efectos en la formación de brotes de malanga.
2. Realizar pruebas de adaptación y aclimatación de las plántulas en distintos sustratos y continuar con las siguientes fases de la propagación de plantas, para llevar de la fase de enraizamiento a la fase de campo.
3. Realizar pruebas con otras plantas de la familia de las aráceas como las del género *Xanthosoma spp.*, para poder determinar si la metodología aquí propuesta funciona con estas plantas.
4. Realizar más estudios sobre la planta de malanga con enfoques a su propagación, industrialización, comercialización e importación ya que es un cultivo potencial industrial en Guatemala.
5. Proponer dicho cultivo como una alternativa para la solución del problema de la hambruna en Guatemala, por contenido alimenticio ya mencionado en el estudio.
6. Que la Facultad de Agronomía promueva proyectos donde se implemente el cultivo de la malanga como alternativa para la producción agrícola.

BIBLIOGRAFÍA:

1. AGEXPRONT (Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales, GT). 1999. Malanga. Guatemala. 6 p.
2. Amador, D. 1999. Manual de prácticas de laboratorio de curso de técnicas de cultivo de tejidos vegetales. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía, Curso de Postgrado en Biotecnología. 43 p.
3. Azurdia, CA; González, MM; Morales, O. 1989. Contribuciones a los recursos genéticos de algunas aráceas comestibles (*Xanthosomas* y *Colocasia*) en Guatemala. Tikalia 2(1):5-16.
4. Casseres, E. 1971. Producción de hortalizas. 3 ed. San José, Costa Rica, IICA. p. 297- 270.
5. CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, MX.) 2003. Los cormos cocidos de la malanga contienen 26-30% de carbohidratos y en México, el manejo del cultivo por lo general es en pequeñas parcelas familiares (en línea). México. Consultado ene. 2003. Disponible en www.conacyt.mx/dadcytr/catalogo/ryt-malanga.
6. Fernández, MV. 1999. La malanga (*Colocasia esculenta*) Agricultura 2(17):26-29.
7. George, E; Puttock, D; George, H. 1987. Plant culture media formulation and uses. Gran Bretaña, Exegetics. 660 p.
8. Gómez-Alpízar, LE; Saborío-Pozuelo, F; Salazar, I; Arias-Moreira, O; Thorpe, T. 1991. Establecimiento y multiplicación *in vitro* de cuatro genotipos de ñampi (*Colocasia esculenta* var. antiquorum). Agronomía Costarricense 15(1-2):123-128.
9. Hartmann, H; Kester, D. 1995. Propagación de plantas principios y prácticas, México, CECSA. p. 549-622.
10. La malanga (en línea). 2003. Ecuador. Consultado may. 2003. Disponible en www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/raices/malanga/malanga.pdf
11. Las actividades tradicionales de exportación la yuca, el ñampi, el tiquizque, la malanga, el ñame y el yampí (papachina...su cultivo se da en toda la región pero son particularmente importantes en Pital (en línea). Costa Rica. Consultados mar. 2003. Disponible en www.estado.nación.or.cr/Info98/nacion4/cap7-97d.htm
12. Lierre, H. 2002. Malanga (*Xanthosoma sagittifolium*. S). Agricultura no. 5:19-22.

13. Malanga (*Colocasia esculenta* Schott): agronomía, botánica, ecofisiología; la malanga es una planta netamente tropical (en línea). México. Consultado feb. 2003. Disponible en Personales.com/mexico/villahermosa/raices/malanga.htm
14. Mendoza, E. 1994. Agrobiotecnología. México, Iberoamérica. p. 22-29.
15. Monge, M; Arias, O; Ramírez, P. 1987. Obtención de plantas de tiquizque blanco y (*Xanthosoma sagittifolium*), de tiquizque morado (*Xanthosoma violaceum*) y ñampi (*Colocasia esculenta*) libre de virus por medio del cultivo *in vitro* de ápices. Agronomía Costarricense 11(1):71-79.
16. Montalvo, A. 1972. Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. San José, Costa Rica, CIDIA-IICA. 284 p.
17. Montgomery, D. 1996. Diseño y análisis de experimentos. Trad. Jaime Delgado. México, Iberoamérica. 584 p.
18. Muñoz-Fonseca, M. 1992. Conservación *in vitro* de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium* Schott). Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Escuela de Fitotecnia. 100 p.
19. Mus, W. 1999. Evaluación del efecto de medios de cultivo, intensidades lumínicas de incubación y edades de siembra en el cultivo *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis Ing Agr. Guatemala, USAC. 98 p.
20. Notas de desarrollo animal: la malanga isleña (*Colocasia esculenta*) es un cultivo de raíz que se siembra ampliamente en las zonas tropicales: su utilización (en línea). Argentina. Consultado abr. 2003. Disponible en [www.echonet.org/tropicalag/ednissues/text span/ edn58st.html](http://www.echonet.org/tropicalag/ednissues/text_span/edn58st.html).
21. Rojas, M; Ramírez, H. 1993. Control hormonal del desarrollo de las plantas. 2 ed. México, Limusa. 263 p.
22. Samayoa, O. 2001. El mercado internacional de la malanga. Agricultura 4(44):26-27.

ANEXOS

10. ANEXOS

Cuadro 12. Solución madre de los medio de cultivos. Murashige y Skoog

<u>Componente</u>	<u>Cantidad a agregar por litro de medio</u>
Macronutrientes	
Nitrato de amonio (NH_4NO_3)	1650 mg
Nitrato de potasio (KNO_3)	1900 mg
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	440 mg
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	370 mg
Fosfato de potasio (KH_2PO_4)	170 mg
Micronutrientes	
Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	8.6 mg
Sulfato de manganeso ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	16.9 mg
Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.025 mg
Ácido bórico (H_3BO_3)	6.18 mg
Yoduro de potasio (KI)	0.83 mg
Molibdato de sodio ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.24 mg
Cloruro de cobalto ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.024 mg
Hierro	
Sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$)	27.8 mg
Na_2EDTA	37.2 mg
Vitaminas	
Tiamina HCl	0.1 mg
Ácido nicotínico	0.5 mg
Piridoxina HCl	0.5 mg
Myo-inositol	100 mg
Aminoácidos	
Glicina	2.0 mg
Azúcar	
Sacarosa	15-30 grs.
Solidificante	
Agar	6 grs.
Otros	
Ácido cítrico	150 mg

Cuadro 13. Componentes del medio de cultivo Murashige y Skoog suplementado pueden llevar uno de los siguientes aminoácidos dependiendo de la disponibilidad del laboratorio:

<u>Componente</u>	<u>Cantidad a agregar por litro</u>
Ácido <i>p</i> -aminobenzóico	0.1 mg
Tyrosina	100.0 mg
Caseína hidrolizada	1000-3000 mg
Ácido citidílico	200 mg
Ácido guanílico	200 mg
L-asparagina	500 mg
L-glutamina	500 mg
L-arginina	500 mg

Cuadro 14 Medias totales de las variables de respuesta de cada uno de los tratamientos en cantidad y longitudes en cms.

tratamientos	promedio hojas	promedio raíces	promedio longitud brotes	total brotes	Longitud raíces
Testigo 1	1.9	0.9	2.51	6	0.39
1	2.4	1.6	2.25	8	1.05
2	0.5	0.1	0.99	3	0.03
3	1.2	1.9	2.79	6	3.05
4	1.7	0.6	1.29	7	1.45
5	0.4	0	0.93	4	0
Testigo 2	1.1	0	0.8	5	0
6	1	0.1	1.15	8	0.06
7	1.6	0.2	1.02	7	0.35
8	0.6	1	1.07	2	0.65
9	1.3	1.1	1.06	6	1.2
10	2.2	0.5	1.5	8	0.55

Figura 14. Síntesis de al Ácido Indolacético AIA

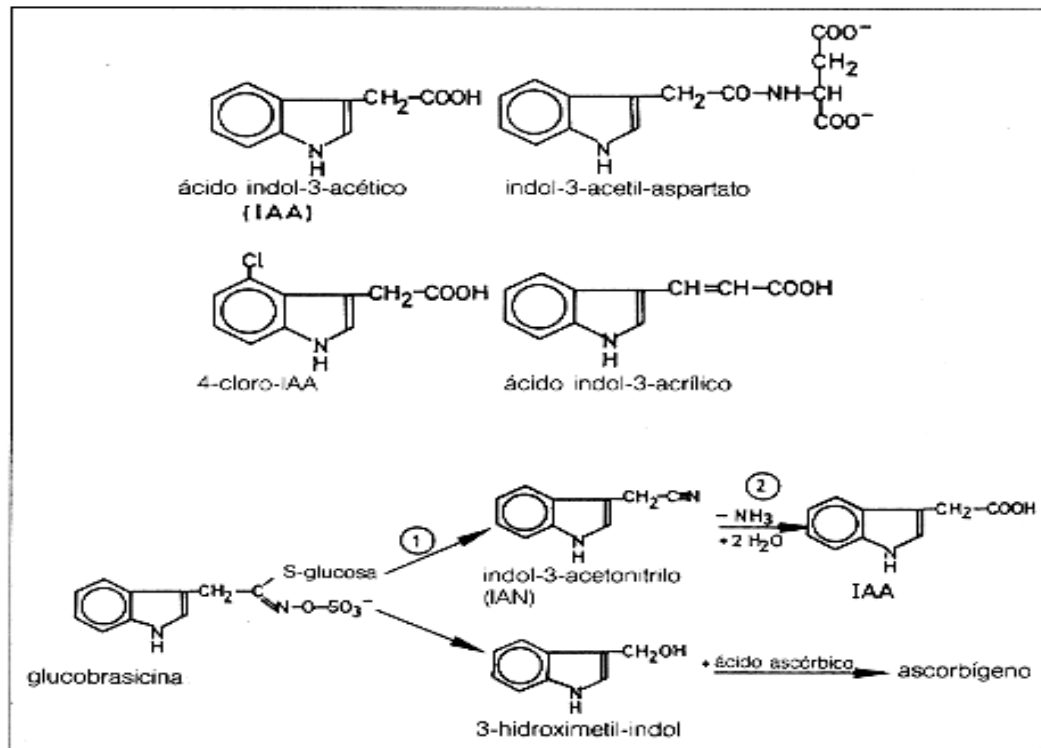


Figura 15. Síntesis de citocininas.

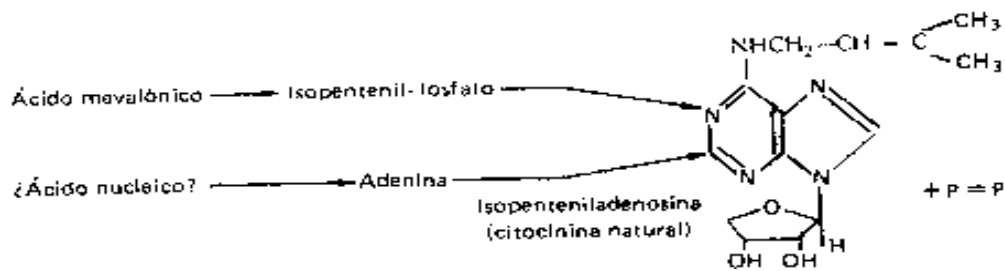


Figura 16. Formulas químicas de las moléculas de los reguladores del crecimiento.

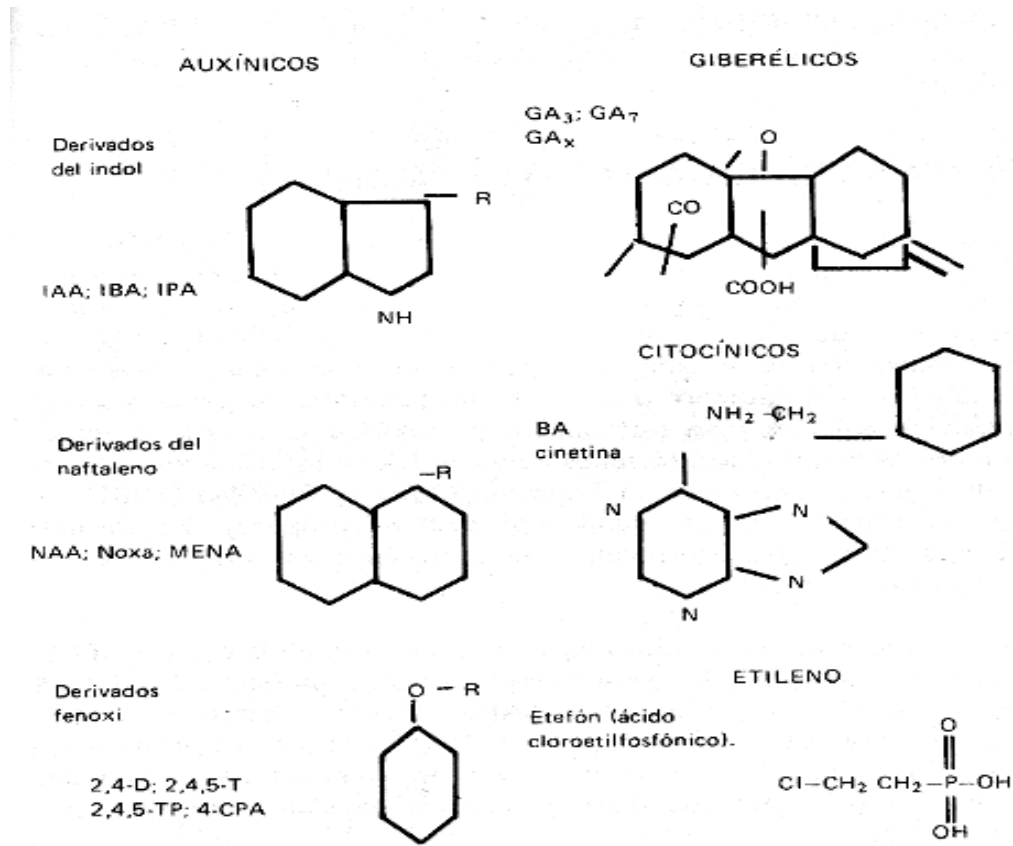




Figura 18. Esquema del cormo de malanga (*Colocasia esculenta*) S.



Fig 19-22. Equipo utilizado en el laboratorio de Izquierda superior a derecha inferior,(a) autoclave, (b) horno de conveccion, (c)plancha con agitador, (d)cámara de flujo laminar.

Ilustración de la metodología de el cultivo *in Vitro* de malanga (*Colocasia esculenta* S).

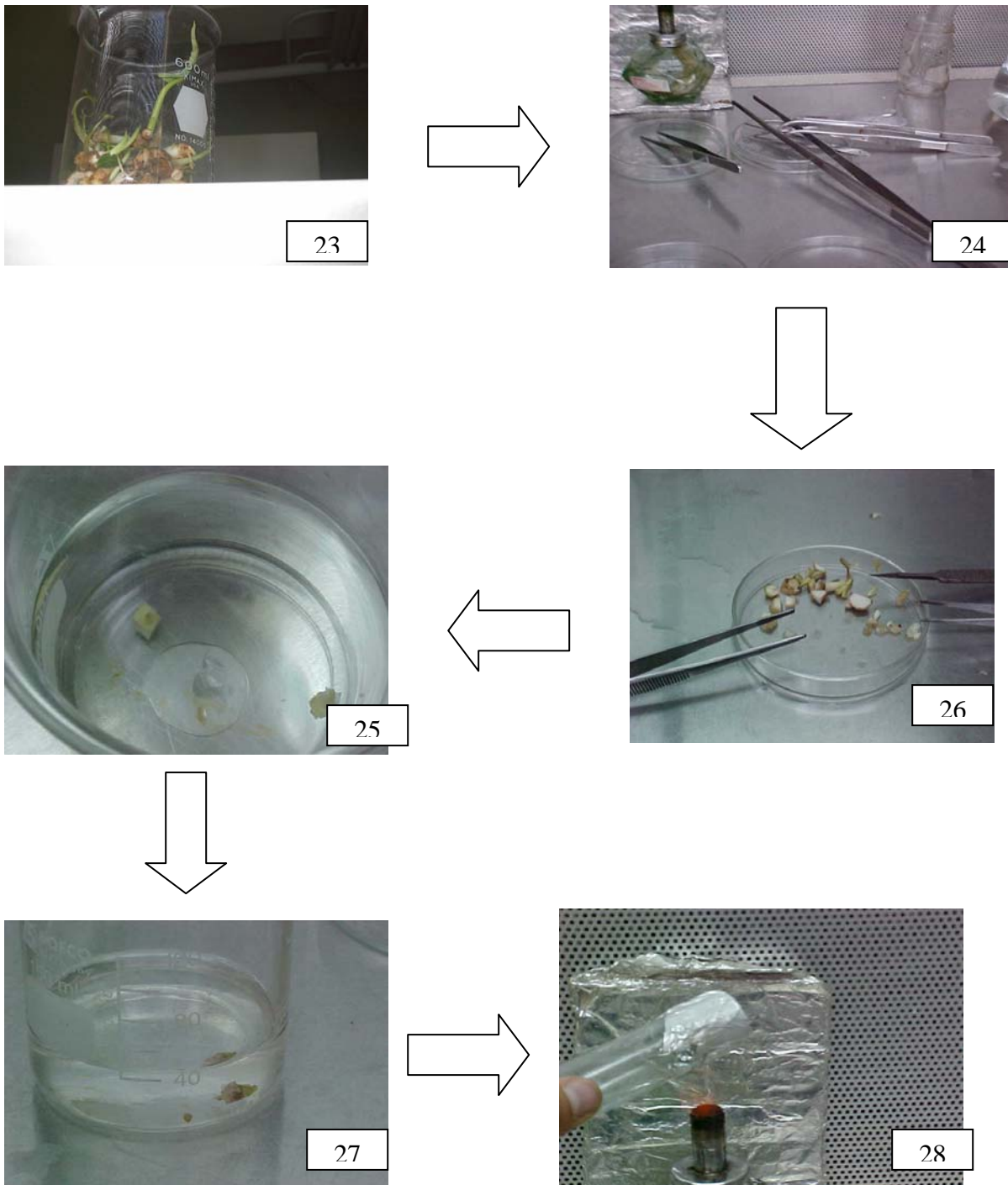


Fig 23 - 28: A, Planta madre sana para extraer el explante, B, Esterilización del instrumental y cristalería, C, Disección de la planta madre, D, Selección de los mejores explantes, E, Lavado del explante con Alcohol al 70%, cloro al 0.05% y Ácido cítrico a 150 ppm, F, Desinfección de la tapa de los tubo de ensayo previo a la siembra.

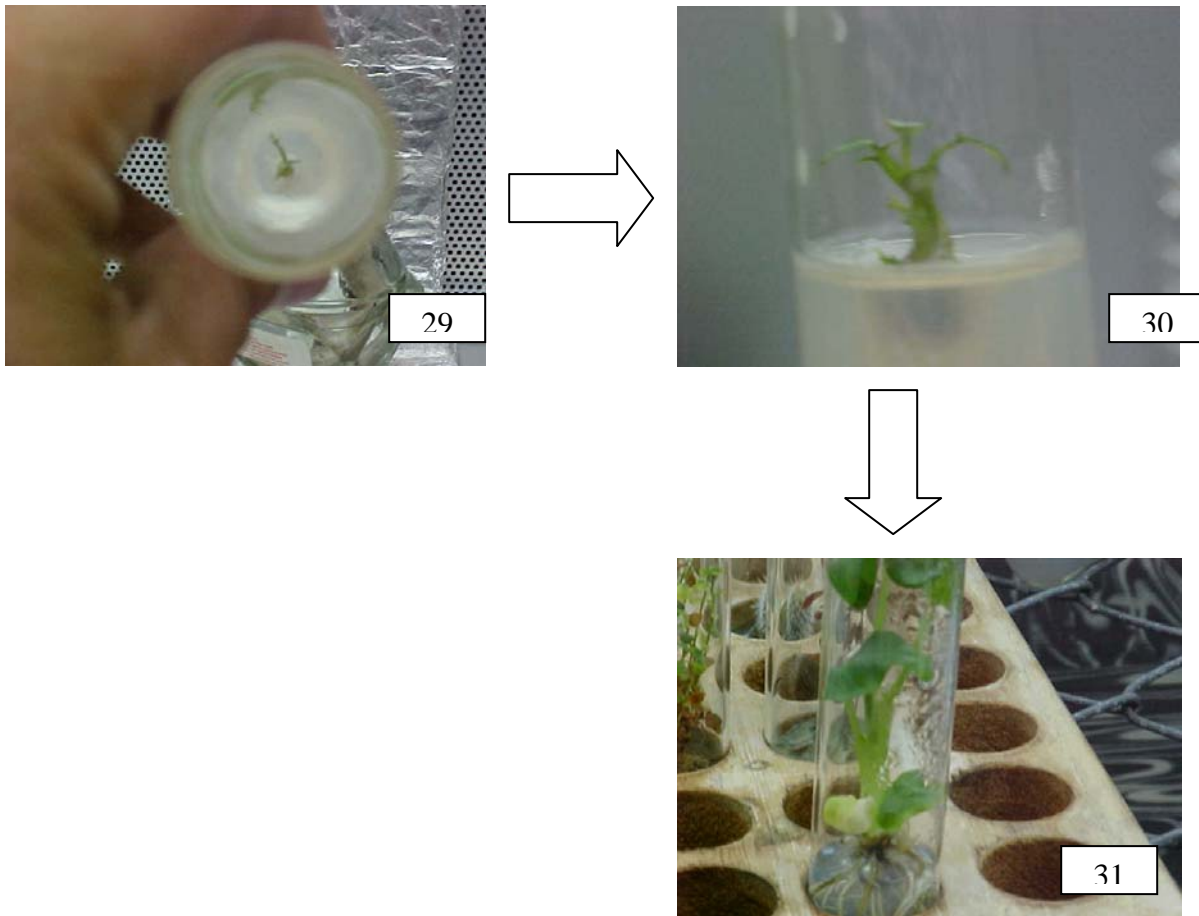


Fig 29- 31: G, Colocación del explante dentro del tubo con el medio de cultivo, H, Formación del brote dentro del medio de cultivo, I, Formación de la planta dentro del medio de cultivo.



Fig 32. Cultivo de malanga (*Colocasia esculenta*)

Fase de aclimatación:

Se colocaron 10 de los brotes con raíces obtenidos en envases de duroport con sustrato de peat moss autoclaveado y desinfectados con mancozeb y sulfato de cobre se le removió los sobrantes de medio de cultivo, se desinfecto con los mismos fungicidas y se observaron por 30 días.



Fig 33. De los brotes a los 30 días de ser colocados en sustrato.



Fig 34. Planta de malanga adaptada a los 45 días en el nuevo sustrato

Cuadro 15. Concentraciones de fungicidas y antibióticos..

Nombre comercial	Tipo de compuesto	Ingrediente activo	Dosis
Clorotalonilo	Fungicida	(tetracloro- isoflalonitrilo	60 %
Cuprimicin	Antibiótico	Streptomina y cuprimicina	75% 250 ppm
Mancozeb	Fungicida	manganeso etileno bis(dithiocabamato	300 ppm
Benomyl	Fungicida	methyl-1- {butylcarbamoyl}-2- benzimidazole- carbamato	300 ppm
Oxicloruro de cobre	Fungicida	Sal de cobre	150 ppm
Estreptomina	Antibiótico	0-2-dioxi-2- {metilamino-alfa-L- glucopiranosil-(1-2)- o-5dioxi-3-C-formil- alfa-L-lixofuranosil- (1-4)-N,N- bis(aminoininometil}- D-estreptomina)	250 ppm

PASOS PARA LLEVAR AL CAMPO LAS PLÁNTULAS OBTENIDAS DE LA TÉCNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS

