

Establecimiento y Multiplicación *In Vitro* de Yautía Coco (*Colocasia esculenta* L.) Vía Organogénesis.

Investigadores: Almonte Rodríguez, A.; Colón Santana, R. A.; Tejada Torres, J. E.; Del Villar Tió, J. L. (jldelvillartio@yahoo.com)

Importancia de la Yautía Coco

Forma parte de la canasta alimenticia de los dominicanos y de los habitantes de muchos otros países. Generaba de ingresos y proveía fuente de trabajo a los habitantes de las zonas productoras. Actualmente la República Dominicana deja de recibir alrededor de US\$10 millones al año por la reducción en más de un 90% de las exportaciones a Estados Unidos y Puerto Rico.

Problemática de la Especie

La aparición del Tizón Foliar de la Yautía (*Phytophthora colocasiae*) en las zonas productoras (San Francisco de Macorís y Nagua) ha reducido el área sembrada en más del 90%. La propagación vegetativa a través de cornelos separados de la planta madre, los cuales llevan adheridos suelo contaminado con el hongo, contamina las nuevas áreas donde se inician las plantaciones, reduciendo la productividad desde la primera cosecha. La poca disponibilidad de material de siembra sano (sin contaminantes) ha sido la principal limitante para incrementar el área dedicada a este cultivo.

Estrategias

La multiplicación *in vitro* de especies de propagación vegetativa, como la yautía, ha probado ser una estrategia viable para obtener material de siembra de buena calidad, libre de plagas y enfermedades y en las cantidades requeridas por los productores agrícolas. La siembra del cultivo en zonas secas, no tradicionales para el cultivo de la yautía, ha sido una alternativa que ha dado buenos resultados, cuando las plantaciones se han iniciado con material de siembra sano y con un sistema de riego que permita controlar la cantidad de agua suministrada al cultivo.

Objetivo General

Establecer y multiplicar *in vitro* la yautía coco vía organogénesis.

Objetivos Específicos

1. Comparar tres métodos de desinfección y tres tamaños de ápices de yautía coco en el establecimiento *in vitro*.
2. Evaluar el efecto del estado físico del medio de cultivo (Semisólido, medio líquido con agitación y medio líquido sin agitación) en la fase de multiplicación de vitroplantas de yautía coco.
3. Evaluar el efecto de tres concentraciones de sacarosa y la consistencia del medio de cultivo (Semisólido, líquido con agitación y líquido sin agitación) en la fase de enraizamiento de vitroplantas de yautía coco.

Resultados y Discusión

I. Establecimiento:

Los resultados obtenidos indican que ni el tamaño del ápice ni el método de desinfección tienen efecto sobre la contaminación, a pesar de que, en términos numéricos, el tamaño de explante de 6 mm mostró las tasas más altas. Santos *et al.* (2005) en su evaluación de la Prevención de la Contaminación Microbiana en la Micropropagación de la Malanga Clon 'Camerun 14' (*Colocasia esculenta* L.), usando el medio de cultivo MS y cuatro diferentes métodos de desinfección, obtuvieron resultados similares utilizando la desinfección con NaClO al 3%/15 min obteniendo un 5.9% de contaminación.

II. Multiplicación:

El mayor número de brotes por explante se obtuvo en el medio de cultivo semisólido a los 21 días después de ser inoculados, con una media de 18.43 brotes por explante. Estos resultados indican que la consistencia del medio de cultivo tiene efecto sobre el número de brotes por explante, donde se obtuvo un coeficiente de multiplicación de 3.69. De igual forma, la sobrevivencia de los explantes fue mayor en el medio de cultivo semisólido.

III. Enraizamiento:

La mayor longitud de las plantas se obtuvo en los medios que tenían 2% de sacarosa, sin importar la consistencia del medio con longitudes de 7.13, 7.28 y 6.58 cm respectivamente. Estos resultados indican que la concentración de sacarosa tiene efecto sobre la longitud de la planta. Sabapathy y Nair (1992) evaluaron la propagación *in vitro* de taro, con espermina, arginina y ornitina usando ápices en dos modificaciones del medio de cultivo L5, temperatura de 21±2°C, fotoperiodo de 16 horas y humedad relativa de 75%, obteniendo resultados similares a este estudio para la variable altura de la planta (3.31-7.88 cm). El mayor número de raíces se obtuvo en el medio de cultivo líquido con un 6% de sacarosa, con 12 raíces/vitroplanta. La mayor longitud de raíces se obtuvo en los medios de cultivo semisólido y líquido con agitación, con 4.24 y 4.77 cm respectivamente. Sabapathy y Nair (1992) obtuvieron resultados similares en el número de hojas de 2.18-7.40.



Cuadro 1. Distribución de los Tratamientos para el Bioensayo 1 Durante el Establecimiento y la Multiplicación *In vitro* de Yautía Coco Vía Organogénesis.

Tamaño del Ápice	NaClO 25%/15 min	NaClO 25%+Etanol 70%/15 min	NaClO+Tween 20/15 min
2 mm	2Na1	2Na2	2Na3
4 mm	4Na1	4Na2	4Na3
6 mm	6Na1	6Na2	6Na3



Cuadro 3. Distribución de los Tratamientos para el Bioensayo 3 Durante el Establecimiento y la Multiplicación *In vitro* de Yautía Coco Vía Organogénesis.

Tipo de Medio	Concentración de Sacarosa		
	2%	4%	6%
Semisólido	MS52	MS54	MS56
Líquido con Agitación	LCA2	LCA4	LCA6
Líquido sin Agitación	LSA2	LSA4	LSA6



Metodología

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad ISA, La Herradura, Santiago, República Dominicana utilizando material vegetal colectado en La Pionía, Villa los Almácigos, Santiago Rodríguez y se desarrolló en tres bioensayos en los cuales se utilizaron las sales inorgánicas y vitaminas del medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementadas con 0.1 mg.l⁻¹ de AIA, 2.5 mg.l⁻¹ de BAP, 20 g.l⁻¹ de sacarosa y 7.0 g.l⁻¹ de agar, con el pH ajustado a 5.8. Los medios se distribuyeron en frascos de comida infantil a razón de 15 ml/frasco, los cuales fueron esterilizados en una autoclave a 121°C por 15 minutos.

I. Establecimiento:

Los cornelos colectados en el campo se colocaron en un germinador de arena (Foto A) donde se le dieron las condiciones necesarias para su brotación y posterior introducción al Laboratorio. Antes de ser llevados al Laboratorio, los cornelos se redujeron a un tamaño de 1.0x1.0x2.0 cm (Foto B). Luego fueron lavados con agua corriente y jabón antibacterial durante 30 minutos (Foto C). Una vez lavados y desinfectados, fueron inoculados (Foto D y E) en uno de los tratamientos mostrados en el Cuadro 1. Las variables evaluadas fueron el porcentaje de explantes contaminados y el porcentaje de establecidos.

II. Multiplicación:

El material vegetal utilizado en este bioensayo consistió de las vitroplantas producidas en el bioensayo I (Foto F) las cuales se inocularon en uno de los siguientes tratamientos: medio semisólido, medio líquido con agitación y medio líquido sin agitación. A estas vitroplantas se les cortaron las raíces y las hojas y se decapitaron, utilizando la porción basal de alrededor de 0.5 cm. Las variables evaluadas en este ensayo fueron el número de brotes, coeficiente de multiplicación y el porcentaje de sobrevivencia. Medidas después de seis ciclos de multiplicación.

III. Enraizamiento:

En este ensayo se utilizaron plantas producidas en el bioensayo anterior y se inocularon en uno de los tratamientos descritos en el Cuadro 2. Las variables evaluadas fueron número y longitud de las raíces, número de hojas y longitud de la planta.

Todos los ensayos fueron analizados con SAS y las medias fueron separadas usando la prueba de Tukey.

CONCLUSIONES

- Los métodos de desinfección y los tamaños de explantes usados en este estudio muestran el mismo efecto en cuanto a la tasa de contaminación.
- El mayor número de brotes y coeficiente de multiplicación se obtiene usando el medio de cultivo en estado semisólido.
- El medio de cultivo en estado líquido con 6% de sacarosa produce la mayor longitud de vitroplantas y el mayor número de raíces.
- Utilizar medio de cultivo en estado semisólido y líquido con agitación combinado con 6% de sacarosa produce la menor longitud de raíces y número de hojas en las vitroplantas.
- El uso de 2% de sacarosa, independientemente de la consistencia del medio, produce vitroplantas con mayor vigor.

Literatura Citada

Diano Libro. 2008. Las Exportaciones de Yautía se Reducen un 90%. <http://www3.derechos.org/nizkor/latam/doc/colocasia.html>

García M., Rodríguez B., Medero V., López J., Ventura J., Cabrera M. *et al.* 1999. Investigación Participativa en Fitomejoramiento y Producción de Semilla de Aracáceas (*Xanthosoma* y *Colocasia*) Aplicando la Biotecnología. In: Simposio Internacional y Talleres sobre Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe. http://www.progprogram.org/sds/imp/NADINE_PDF/GARCIA.pdf

Hu, C. Y. y J. P. Wang. 1983. Meristem, Shoot Tip and Bud Culture. En: Handbook of Plant Cell Culture. Evans, D. A., Ammirato, P. V. y Yarnell, Y. (eds.) MacMillan Publishing, Nueva York, V.1, p. 177-227.

Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). 2004. Tizón Foliar, Enfermedad de la Yautía Coco (*Colocasia esculenta* L.) Sobito causada por *Phytophthora colocasiae* (Rehborski, 1900). Hoja Técnica. Santo Domingo, República Dominicana.

Kantha, K. 1981. Meristem Culture and Cryopreservation: Methods and Applications. En: Plant Tissue Culture: Methods and Applications and Agriculture. T. A. Thorpe (ed). New York, Academic Press, p. 181-211.

Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio-assays with Tobacco Tissue Culture. *Physiological Plantarum*, 15: 473-497.

Pérez Ferrer, J. N. 1996. Propagación y Mejora de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de Plantas. Santa Clara, Cuba, 380 p.

Zeleznik Macara, M. A. 2000. Organogénesis Directa y Embriogénesis Indirecta en el cultivo *in vitro* de *Quercus sp.* (*Quercus agrifolia* L.). Sobito. Cultivos Blancos. Trabajo de maestría. <http://www.uba.edu.ar/~teas/infocito.pdf>