

Combate del DsMV y producción de “semilla” de malanga (*Xanthosoma* spp.) de alta calidad.

Servelio F. Quintero Fernández, Adolfo Rodríguez Nodals y Arlene Rodríguez Manzano

**Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical
“Alejandro de Humboldt” (INIFAT).**

RESUMEN

Se desarrolló un procedimiento para eliminar el DsMV, y se determinó la velocidad de reinoculación, así como un procedimiento biotecnológico y otro agronómico, para multiplicar la “semilla” de alta calidad: Una metodología para el cultivo *in vitro* de la malanga, con aportes significativos en ahorro de tiempo, manipulaciones y reactivos, que en un año multiplica una yema en 10 000, o un cormo en 10-30 “semillas” en 15 días; y la producción de “microsemillas agámicas” a partir de vitroplantas, para su almacenamiento, o para su comercialización a grandes distancias o fuera de época. Estos resultados fueron verificados durante cuatro años. La “semilla” producida fue cultivada en campo, con la que se recuperaron los rendimientos productivos de la malanga. Se diseñó un proceso para producir “semilla”, que multiplica un cormo 1:10-30 en 15 días, el que resultó una Patente de Invención. A los cuatro años de inoculado el DMV-S en la “semilla” de malanga libre del virus, se registraron pérdidas hasta del 80%; sin embargo, cuando las plantas libres del virus fueron preinoculadas con el DMV-B, más del 80% de éstas permaneció protegido por más de 10 años, lo que resultó una “vacunación” contra el virus severo, y por tanto, su combate eficiente. La aplicación de estas técnicas, permitió la obtención de “semilla” categorizada de malanga de alta calidad.

INTRODUCCIÓN

La malanga (*Xanthosoma* spp.) es una planta de reproducción agámica. Por esta razón, su reproducción es de muy bajo índice. Así un cormo que generalmente demora 12 meses o más para su desarrollo, produce entre 5 y 9 “semillas”. La disponibilidad de metodologías que permitan la obtención de índices más productivos es de gran valor para lograr la obtención de las cantidades de “semillas” que demanda la producción y en poco tiempo, especialmente si se trata de materiales de gran valor genético o fitosanitarios, entre ellos certificados libres de virus o protegidos mediante procedimientos de

inmunización contra aislados severos. El objetivo fundamental de este trabajo consistirá en el desarrollo de una metodología para la multiplicación de la “semilla” de la malanga con altos índices productivos, en breve tiempo y la aplicación de técnicas agronómicas combinadas para producir “semilla” de categoría, convencional y protegida contra el DsMV, que representa el virus de mayor distribución en los países cultivadores de malanga.

MATERIALES Y MÉTODOS

Eliminación del DsMV del Material de Propagación (“Semilla”)

Se tomaron plantas plus como material de partida, de la especie *X. sagittifolium*, de los clones ‘Viequera’ y ‘Macal Sport’; y de *X. nigrum*, de los clones ‘México 1’, ‘México 8’ e ‘INIVIT-84’; debido a que estos clones de malanga (*Xanthosoma* spp.) que se cultivan comercialmente en Cuba, se encuentran contaminados con el DsMV. Se realizaron Tratamientos con hidrotermoterapia a cormos de malanga con síntomas agudos del DsMV, en temperaturas de 45° C, 50° C y 55° C, durante 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas y a fracciones de 1 cm³ de cormos o cormelos que presentaban una yema, procedentes de plantas virosas de los clones ‘INIVIT-84’; ‘Macal Sport’ y ‘México 8’ se mantuvieron en 50° C desde dos hasta ocho horas en hidrotermoterapia. Además, se aplicó: Cultivo en microzeopónico (MZ) 4) En condiciones de termoterapia en 39° C ± 1 y con 200 luxes durante 10 días o más y 5) y los meristemas fueron cultivados *in vitro*.

Las vitroplantas que se obtuvieron de los meristemas a los 45-60 días fueron analizadas por UM-ELISA (DAS), en un SUMA con el diagnosticador preparado contra el DsMV. Las plantas que resultaron negativas, fueron usadas como “semilla” original libre del DsMV y pasadas a un medio de proliferación, durante 21-25 días. Las medias fueron comparadas estadísticamente por la dósima de Duncan al nivel de 5% de significación.

Se cultivaron 15 vitroplantas del clon ‘Viequera’, libres del DsMV, durante 12 meses en aislador, en suelo esterilizado con formalina al 4%, Pardo con Carbonato. La distancia de plantación fue de 28 x 50 cm, con observación semanal, para determinar los síntomas virales. Este material recibió los pasos del Tratamiento IIIb. Durante este cultivo, se mantuvo un tratamiento fitosanitario semanal contra áfidos y ácaros, con riego localizado. La producción fue evaluada por plantas y las muestras integradas en cinco grupos

(1-5) con tres réplicas, cuyas medias fueron comparadas con los rendimientos de un número similar de plantas testigos (6-10) que procedían de “semilla” virosa, sin tratar. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan, al nivel de 5%.

Recuperación del Potencial Productivo de Clones Comerciales

de Malanga (*Xanthosoma* spp.)

Se utilizó "semilla" original, convencional, de malanga certificada libre del DMV, de los clones 'Viequera' y 'Macal Sport' (*X. sagittifolium*); 'México 1', 'México 8' e 'INIVIT-84' (*X. nigrum*) la que fue plantada en Santiago de las Vegas, en julio de 1995, en desarrollo libre. Las medias fueron evaluadas con la prueba de Newman-Keuls, al nivel de 5%.

Reinoculación del Virus del Mosaico de la Malanga (DMV): Deterioro

Productivo de Clones Comerciales

Se utilizaron los clones cultivados liberados del DsMV: 'México 1', 'México 8' e 'INIVIT-84' (*X. nigrum*); 'Viequera' y 'Macal Sport' (*X. sagittifolium*), con “semilla” certificada por UM-ELISA (DAS), mediante el SUMA. Se realizaron varios experimentos en diferentes condiciones, en occidente, centro y en el oriente del país, para determinar el efecto de la distancia del fondo provocativo, en función del clon y del tiempo, en la reinoculación del virus. (MINAG, 1988a). Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan.

Preinoculación de la Malanga con un Aislado Débil del

***Dasheen mosaic potyvirus* (DMV): Inmunización**

Se realizaron prospecciones donde se han cultivado los clones comerciales de malanga y los autóctonos (*Xanthosoma* spp.) y malanga isleña (*C. esculenta*), en los últimos años. Los de mayor interés fueron caracterizados, teniendo en cuenta el nivel de contaminación con el DsMV, los que fueron caracterizados, atendiendo a los niveles productivos, obtenidos mediante la fitotecnia local y al nivel de contaminación con el DsMV, en los laboratorios del INIFAT, para su aislamiento e identificación. La presencia del DsMV se determinó por UM-ELISA (DAS) en un SUMA. También se aplicó un método biológico de revelación fisiológica de síntomas. Se conformaron dos grupos de síntomas o aislados. Uno, el considerado como DMV-S. El otro, que permanecía mayor tiempo en estado asintomático, considerado el DMV-B. La “semilla” de los clones comerciales fue inoculada con DMV-S, cultivada en condiciones de

campo, durante cuatro años (MINAG, 1988a, 1998). La “semilla” de tres clones autóctonos: fue inoculada con el DMV-B y cultivada en campo y plantados contiguos. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan.

Producción de "Semilla" de Malanga de Alta Calidad

Cultivo *In Vitro* de la Malanga

Pretratamiento

Se utilizó el clon ‘Viequera’ (*X. Sagittifolium*) libre de virus para determinar la microflora local. Los aislados fueron cultivados en placas, en presencia de discos impregnados con los antibióticos: Kanamicina (K-30), Eritromicina (E-15), Tetraciclina (TE-30), Ampicillin (AMP-10), Gentamicina (GN-10) y Penicilina (P-10); en 28° C ± 2/3 días. Se evaluó el diámetro de las colonias con escala de cinco grados. Se definió el pretratamiento con tres antibióticos y un fungicida.

Establecimiento

De los propágulos pretratados, se tomaron los ápices, se desinfectaron y fueron cultivados en medio de Murashige y Skoog (MS), suplementado con hormonas y antibióticos, en 26° C ± 1, con 3 000 – 5 000 luxes/7-10 días.

Preproliferación

Los ápices establecidos en 7-10 días, fueron pasados a nuevos medios MS, sin antibióticos, con distintos niveles de hormonas y la adición de nitrato de plata y tiosulfato de sodio. A los 28 días, fueron evaluados, los seis medios estudiados y las contaminaciones (Rodríguez Nodals, 2001). Se realizó un análisis de varianza, mediante la prueba de comparación múltiple de Neuman-Keuls.

Proliferación

Los ápices preproliferados fueron pasados a 14 medios para optimizar esta fase, y determinar la interacción citoquinina:auxina en la proliferación de la malanga (BAP:AIA). A los 21-28 días de cultivo, las vitroplantas fueron evaluadas. Se realizó un análisis de varianza, mediante la prueba de comparación múltiple de Newman-Keuls.

Enraizamiento y Endurecimiento

Se determinó la conveniencia de no pasar el material a la fase de enraizamiento y dejar las vitroplantas en el medio de proliferación. También se

evaluó el enraizamiento y la brotación de hojas de las vitroplantas en el endurecedor. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan.

Trasplante, Almacenamiento o Exportación

Las vitroplantas endurecidas, fueron trasplantadas al campo y se evaluó la capacidad multiplicadora; o se mantuvieron en el endurecedor, hasta que los minitubérculos convertidos en “microsemillas agámicas”, fueron capaces de ser almacenadas, enviadas o exportadas a largas distancias. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan.

Producción de “Semilla” de Malanga a Escala Comercial, por Métodos no Convencionales

Producción de Donantes Axénicos

La “semilla” en mantenimiento, fue utilizada para la producción de donantes axénicos mediante el procedimiento aquí establecido.

Micropropagación en un Módulo de 40 000 Vitroplantas

En Guantánamo en una biofábrica, con una capacidad productiva de 40 000 vitroplantas, se produjeron las vitroplantas de malanga, libres de virus, o inmunizadas contra el DsMV, a escala comercial. Se aplicó un esquema de producción para entregar 32 000 vitroplantas mensualmente.

Producción de “Zeoplántulas”

Con la puesta a punto del novedoso método de producción de “semilla” de malanga del Microzeopónico, amparado bajo el Certificado de Invención No. 22 196, se produjeron las “zeoplántulas” (plántula producida en zeolita en condiciones de laboratorio).

Esquema para la Producción de “Semilla” Categorizada, Convencional, de Malanga

La “semilla” original, producida en la biofábrica de “Sabaneta” (Guantánamo) mediante la aplicación de la tecnología establecida de cultivo *in vitro*, fue planificada en cantidades suficientes para plantar 1 ha cada mes. Las vitroplantas fueron aclimatadas y endurecidas en la Empresa Provincial de Semilla de Guantánamo.

Fincas Especiales

Las vitroplantas (“semilla” original), fueron plantadas en 1997 en Guantánamo, en Fincas Especiales, para producir la “semilla” básica. Estas Fincas

Especiales cumplirían el instructivo y algunos requisitos. Se evaluó la presencia de virus en las plantaciones.

Fincas Municipales de Semilla

La “semilla” básica, se entregó a las Fincas Municipales de Semilla para producir la “semilla” registrada y cormelos para el consumo, mediante la aplicación del instructivo técnico del cultivo y de un suplemento orientativo. Se evaluó la presencia de virus.

Fincas Autorizadas de Semilla

La “semilla” registrada, producida en las Fincas Municipales de Semilla, o en áreas con estas funciones, fue entregada para producir “semilla” certificada y cormelos para el consumo. Aplicaron las instrucciones orientadas a estas áreas productoras de “semilla”, las que fueron chequeadas además, por el Sistema Nacional de Certificación de Semilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Eliminación del DMV del Material de Propagación (“Semilla”)

La mejor temperatura para el tratamiento con hidrotermoterapia de la malanga, fue de 50° C, a yemas de 1 cm³; para los tratamientos con hidrotermoterapia. El 100% del material que recibió el tratamiento completo de cinco pasos, resultó liberado del DsMV (Tabla 1), tratado en yemas de 1 cm³, con hidrotermoterapia en temperatura de 50° C durante 4 h, con choque hipotérmico durante una hora o más, y cultivado en el microzeopónico, donde recibió una termoterapia de 39° C ± 1/10 días o más, con 200 luxes y meristemas entre 0,3 y 0,5 mm.

Tabla 1. Tratamiento IIIb a yemas de 1 cm³ del clon ‘Viequera’ con hidrotermoterapia (HTT), choque hipotérmico (CH), microzeopónico (MZ), termoterapia (TT) y cultivo de meristemas (CM), analizados por UM-ELISA (DAS), mediante un SUMA¹.

Muestras	Lecturas	T e s t i g o s		Observaciones
		(-)	(+)	
1	7,71 a ²⁾	7,35 a	128,68 d	Tratamiento completo
2	7,79 a ²⁾	-	-	Tratamiento completo
3	7,99 a ²⁾	-	-	Tratamiento completo
4	8,00 a ²⁾	-	-	Tratamiento completo
5	8,06 a ²⁾	-	-	Tratamiento completo
6	8,93 a ²⁾	-	-	Tratamiento completo
7	10,67 ab ²⁾	-	-	Tratamiento completo
8	11,00 ab ²⁾	-	-	Tratamiento completo
9	12,41 abc ²⁾	-	-	Tratamiento completo
10	12,80 abc ²⁾	-	-	Tratamiento completo

ESx (±)	1,9
Cv (%)	1,2

¹⁾ El valor del PBS fue de 10,12. La dilución de trabajo del conjugado fue de 1:800. La dilución de la IgG fue de 1:800. La dilución del Ag fue de 1:5.

²⁾ Muestras de vitroplantas consideradas libres del DsMV.

Tabla 2. Rendimiento de las primeras 15 plantas saneadas del clon 'Viequera', después de aplicado el tratamiento completo (Tabla 3) para la eliminación del DsMV, comparado con el de plantas sin tratar. (Testigo 6-10)

MUESTRA	RENDIMIENTO PROMEDIO ¹⁾ (en g)	Número de Cormelos	OBSERVACIONES
1	1 808	18	"Semilla" libre del DMV
2	2 175	22	"Semilla" libre del DMV
3	2 183	21	"Semilla" libre del DMV
4	2 452	26	"Semilla" libre del DMV
5	2 657	29	"Semilla" libre del DMV
X	2 255,5 a	23,2 a	Promedio libre de virus
6	199	2	"Semilla" muy virosa
7	204	3	"Semilla" muy virosa
8	210	4	"Semilla" muy virosa
9	200	2	"Semilla" muy virosa
10	203	3	"Semilla" muy virosa
X	203,5 b	2,8 b	Promedio viroso
ESx (±)	287,0	3,9	
CV (%)	8,1	6,5	

¹⁾ Rendimiento promedio de tres réplicas (Muestras 1-5 y 6-10).

Nota: Letras en común, no difieren significat para $P \leq 0,05$, según Duncan.

Las 15 plantas libres del DMV, que fueron cultivadas en tierra, en aislador (Tabla 2), dieron diferencias altamente significativas, tanto en cormelos (23,2 contra 2,8 el testigo), como en peso (2 255 g, contra 203 g el testigo). Se logró la eliminación del virus, con el 100 % de eficiencia, comprobado después de más de 10 años.

Recuperación del Potencial Productivo de Clones Comerciales de Malanga (*Xanthosoma spp.*)

El rendimiento potencial, obtenido por planta libre del DsMV, fue muy diferente a las cifras aceptadas para los clones en estudio, determinadas con "semilla" no certificada libre de virus (Tabla 3). Quedó demostrada la presencia del DMV, como una de las causas fundamentales del deterioro productivo de la malanga. El clon 'Macal Sport', libre del DMV, se presentó como una promesa con 80 t/ha como rendimiento potencial. Según las estadísticas nacionales (Dirección

Nacional de Cultivos Varios, 1985; MINAG, 1986; MINAG, 1997) desde 1966 hasta 1997, en Cuba no han habido rendimientos de malanga por encima de 15,300 t/ha (4474 qq/cab) como producción real (1978). En Cuba, de 1978 a 1994, el rendimiento descendió de 15,30 t/ha a 0,80 t/ha. La “semilla” estaba 100% virosa. La reflexión, induce a pensar que una de las principales causas

Tabla 3. Índices de producción de clones comerciales de malanga (*Xanthosoma spp.*) determinados con “semilla” virosa, comparados con los rendimientos potenciales determinados con “semilla” libre de virus, en condiciones de campo.

Clon de malanga	Rendimiento potencial (t/ha)		Potencial productivo ¹⁾ (t/ha)	Rendimiento real ¹⁾ (t/ha)
	Libre de virus	Viroso ¹⁾		
‘Macal Sport’	80 a	18	16	15,0
‘INIVIT-84’	54 b	-	-	-
‘México 1’	50 cd	35	20	11,3
‘México 8’	49 de	35	20	11,3
‘Viequera’	48 e	26	15	8,0
Esx (±)	12,1			
CV (%)	4,5			

¹⁾ Determinado por Rodríguez Nodals, (1978).

Nota: Cifras que comparte letras en común, no difieren significativamente para $P \leq 0,05$ (Prueba de Neuman-Keuls).

Tabla 4. Experimento C: Plantas reinoculadas con el DsMV en condiciones de campo, por fecha y por clones.

Fecha	C l o n e s d e m a l a n g a					Reino- culadas	(%)
	‘Viequera’	‘México 1’	‘México 8’	‘Macal Sport’	‘INIVIT-84’		
10/8	0	1	0	1	0	2/360 ¹⁾	0,6
11/9	8	2	4	0	2	16/358	4,5
24/9	10	10	19	9	0	48/342	14,0
23/10	11	16	14	11	14	66/294	22,4
12/11	8	12	10	11	8	49/228	21,5
5/12	9	9	4	9	7	38/179	21,2
31/1	5	2	3	7	12	29/141	20,6
21/2	3	2	2	4	5	16/112	14,3
14/3	0	0	0	3	0	3/96	3,1
24/4	0	3	0	5	0	8/93	8,6
TOTAL	54	57	56	60	46	273/360	75,8
(%)	75,0	79,2	77,8	83,3	63,9	75,8	

¹⁾ **Numerador:** Total de plantas reinoculadas de las tres réplicas.

Denominador: Total de plantas sin inocular que habían en esa fecha, en las tres réplicas.

de la disminución de los rendimientos de la malanga, se atribuya a la distribución del DsMV en la "semilla".

Reinoculación del Virus del Mosaico de la Malanga (DsMV): Deterioro Productivo de Clones Comerciales

Se manifestó la importancia de la presencia de un fondo provocativo del DsMV para su reinoculación en campo. A más de 3 000 m, no hubo reinoculación del DsMV, en condiciones naturales; pero a 1 200 m, se reinoculó el virus (Tabla 4). El clon con mayor porcentaje de reinoculación fue 'Macal Sport', con 3,6%.

Preinoculación de la Malanga con una Estirpe Débil del *Dasheen Mosaic Potyvirus* (DMV): Inmunización

Se prospectaron 30 clones de interés. Los clones: 'Viequera', 'Amarilla Especial', 'Amarilla Trinidad' y 'Macal Sport' (*X. Sagittifolium*); y 'México 1', 'México 8' e 'INIVIT-84' (*X. nigrum*). También 'Camerún-14' (*C. esculenta*). Además, otros 22 clones autóctonos de *Xanthosoma* y 3 de *Colocasia*. Los clones comerciales, presentaron entre 90% y 100% de las plantas con uno o más síntomas del aislado DsMV-S, integrado por mosaico amarillo, mosaico mezclado, mosaico generalizado, deformación, mosaico azulado, asimetría foliar aguda, proliferación foliar, arrugamiento foliar, disminución del desarrollo o bajo nivel productivo. De los clones autóctonos un grupo mostraba el síndrome del aislado DsMV-S, incluida la disminución de los rendimientos, hasta en el 80% de las plantas; mientras que, entre 80% y 90% de las plantas de otros clones, presentaban el síndrome del DsMV-B, con aparición de mosaico ligero plumoso marginal en algunas hojas, ausencia de arrugamiento foliar, con pequeña o ninguna disminución de los rendimientos. Solamente de 10% a 16% de las plantas de este grupo, presentó síntomas del aislado severo. Al inocular las muestras anteriormente descritas, en vitroplantas de malanga, los síntomas primarios aparecieron entre 15 y 30 días, con mosaico agudo nervial y no se observaban grandes diferencias entre ellas. Los siguientes años, aparecieron las diferencias en los síntomas (Tabla 5). En las muestras del aislado DsMV-S, se obtuvo gran cantidad de virus puro y los valores fueron hasta de 128. Esto coincide con los resultados de Price (1936) y Brunt *et al.* (1997). Ambos aislados del DsMV son transmitidos mediante la "semilla", por largo tiempo.

Al cuarto año de reinoculada la “semilla” con el DsMV-S, ya la diferencia entre clones, del porcentaje de plantas con síntomas severos, fue altamente significativa (Tabla 6). ‘Macal Sport’ alcanzaba el 80% de plantas con deterioro productivo, ‘Viequera’ solamente presentaba 41%. Las plantas sin síntomas severos, producía entre los límites productivo indicado (Tabla 6).

Los tres clones inoculados con el aislado DsMV-B, mostraron un deterioro productivo significativamente menor, comparado con el DsMV-S, pues el clon que mayor cantidad de plantas mostró deterioro productivo fue el ‘BM’ con sólo 16%; seguido de ‘MC’ con 15%, y ‘BVS’ con 13%.

La inmunidad adquirida fue demostrada en plantas por varios autores desde el inicio del Siglo XX. Este término ha sido controvertido y fue conocido en virus de plantas como protección cruzada y utilizado con fines de identificación de virus. Ha sido denominado como: Antagonismo, preinmunidad, interferencia, resistencia sistémica múltiple (McIntyre *et al.*, 1981). Price (1964) usó este término en plantas. La inmunidad adquirida en plantas, a diferencia de la producida en animales, fue interpretada por Salaman (1937) como celular y no humoral. Price (1936) consideró que una estirpe de un virus o un virus cercanamente relacionado con otro, interfiere su multiplicación. La interferencia puede ser de larga duración (McIntyre *et al.*, 1981).

Tabla 5. Aparición de síntomas secundarios del DsMV (segundo año de evaluación) en los clones comerciales de malanga (*Xanthosoma* spp.) del Experimento C, a los tres, cinco y 10 meses de la plantación.

Clon	Aparición de los síntomas secundarios (%) ¹⁾		
	A los 3 meses	A los 5 meses	A los 10 meses
‘Macal Sport’	100 a	77,9 a	71,1 a
‘México 8’	52,2 d	53,6 b	55,3 b
‘México 1’	50,1 e	48,6 c	41,2 cd
‘INIVIT-84’	62,1 c	46,2 d	40,2 cd
‘Viequera’	66,7 b	36,4 e	25,4 e
ESx (±)	17,9	13,9	15,5
CV (%)	4,1	3,5	2,2

¹⁾ Los valores representan la media de 24 plantas con tres réplicas

Nota: Cifras que comparten letras en común, en la misma columna, no difieren significativamente para $P \leq 0,05$, según la dósima de Duncan.

Tabla 6. Deterioro productivo de la malanga (*Xanthosoma* spp.) causado por el DsMV en función del tiempo. El porcentaje de

plantas con síntomas severos, representa la media de las tres réplicas del cuarto año, del Tratamiento I (clones comerciales) y del Tratamiento II (clones autóctonos).

Clones de malanga	Aislado (Virus)	Años	Plantas c/ síntomas agudos %	PRODUCTIVIDAD (g/planta)	
				Secano ¹⁾	Con riego ¹⁾
'Macal Sport'	DMV-S	4	80 a ²⁾	480-1700 ³⁾	900-2500 ³⁾
'INIVIT-84'	DMV-S	4	70 b	360-1200	890-2200
'México 8'	DMV-S	4	62 cd	470-1600	900-2200
'México 1'	DMV-S	4	61 cd	470-1600	900-2200
'Viequera'	DMV-S	4	41 e	460-1500	850-2100
ESx (±)			12,8		
CV (%)			4,1		
'BM'	DMV-B	10	16 a	460-1100	900-2100
'MC'	DMV-B	10	15 ab	480-1800	960-2500
'BVS'	DMV-B	10	13 c	460-1100	970-2100
ESx (±)			1,2		
CV (%)			2,1		

¹⁾ Media estimada en experimentos participativos con cultivadores.

²⁾ Produjeron menos de 460 g/plantas.

³⁾ Límites de producción de las plantas con síntomas severos.

Nota: Cifras que comparten letras en común, no difieren significativamente para $P \leq 0.05$, según la dósima de Duncan.

Producción de "Semilla" de Malanga de Alta Calidad

Cultivo *In Vitro* de la Malanga

Pretratamiento

Se obtuvieron tres aislados: A-1, de medios contaminados y tallos; A-2, de medios contaminados y extractos de plantas y A-3, sólo de medios contaminados. De las muestras obtenidas directamente del aislador, sin pasar por cultivo *in vitro*, se obtuvieron los aislados: A-5, I-1, I-2 y V-II. Los antibiogramas permitieron formar las mejores combinaciones de antibióticos para el pretratamiento.

Establecimiento

El 100% de las yemas sembradas, resultó establecido, con 0% de pérdidas. Esta es una de las grandes ventajas del establecimiento a partir de ápices y no de meristemas. El pretratamiento desarrollado para la malanga, resultó de alta eficiencia. A los 7 – 10 días se pasaron para la siguiente fase.

Preproliferación

A los 28 días, ninguna yema de los tratamientos, presentaba contaminaciones, el testigo presentaba 29,2% contaminado, lo que ratificó la eficiencia del pretratamiento aplicado. El aumento del vigor de los ápices, fue evidente cuando se pasaron al nuevo medio de cultivo; sin antibióticos, sin contaminantes y con nuevas relaciones de hormonas con nitrato de plata y tiosulfato de sodio. El mejor medio de cultivo resultó el M4 (MS + 1 mg/L BAP; 0,3 mg/L AIB; 5 mg/L de AgNO_3 ; 5 mg/L de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$; 30 g/L azúcar refinado). El M4 presentó diferencia significativa, con el M1 que fue el testigo (Tabla 7). Con el medio M4 se obtuvo aproximadamente 1:4, lo que representó el éxito de esta nueva fase.

Proliferación

El vigor logrado en la preproliferación, se mantuvo en la proliferación; sin embargo, con relación a la cantidad de explantes producidos, se observan diferencias significativas entre ellos, aunque el análisis estadístico muestra mayores tendencias que diferencias, y no siguió un patrón matemático lineal o al menos parabólico. El índice de multiplicación de la malanga, no fue regido por la cantidad de hormonas que se usó (BAP y AIA); si no, por la relación en que se encontraban. Así, la relación 3,3:1 (BAP:AIA), que contenía la mitad de las hormonas del testigo usado aquí [2(3,3:1)], produjo casi la misma cantidad de explantes (6,9 y 7,0 respectivamente); y la relación 3,2:1 con sólo 0,1 de diferencia, produjo 4,4 explantes. El índice de proliferación, siguió un modelo matemático típico de una ecuación periódica sinusoidal.

Los puntos de máxima proliferación (6,9 y 7,0 para las relaciones 3,3:1 y 2[3,3:1] respectivamente) sin embargo, no coincidieron con los pronósticos matemáticos y se comportaron como puntos aberrantes de la fórmula, para la que coincidió la mayoría de los puntos experimentales.

Tabla 7. Distribución del DsMV-B en una planta asintomática del clon 'Macal Sport' de 11 meses y porcentaje del área total afectado, determinado por senescencia inducida.

Hoja No.	Área foliar total (cm ²)	Afectación	
		Área	%
1	2023	46	2,3
2	2028	59	2,9
3	2035	116	5,7
4	2065	304	14,7
5	2086	295	14,1
6	2060	2060	100,0
7	2051	10	0,5
8	2039	39	1,9
ES x (±)			31,5
CV (%)			0,32

Tabla 8. Efecto de la relación del BAP:AIA en la producción de explantes y yemas de malanga, desde 2,0:1 hasta 5, 3:1.

Medio	Relación	Intervalo	BAP	AIA	Yemas	Explantes	Lugar
1	2,0:1	-	2,0	1,0	2,5 c	4,2 abc ¹⁾	9
2	2,3:1	0,3	2,3	1,0	4,6abc	4,9 abc	7
3	2,7:1	0,4	2,7	1,0	5,4ab	5,7 abc	4
4	3,0:1	0,3	3,0	1,0	5,2ab	5,1 abc	6
5	3,2:1	0,2	3,2	1,0	3,6 bc	4,4 abc	8
6	3,3:1	0,3	2,0	0,6	5,1abc	6,9 ab	2
T 7	3,3:1	0,3	4,0	1,2	4,8abc	7,0 a	1
8	3,5:1	0,2	3,5	1,0	3,2 bc	3,6 c	12
9	3,8:1	0,3	2,3	0,6	3,6 bc	4,2 abc	9
10	4,2:1	0,4	2,5	0,6	3,5 bc	4,1 bc	10
11	4,5:1	0,3	2,7	0,6	5,0abc	5,8 abc	3
12	4,7:1	0,2	2,8	0,6	6,3a	5,4 abc	5
13	5,0:1	0,3	3,0	0,6	4,3abc	4,4 abc	8
14	5,3:1	0,3	3,2	0,6	3,3 bc	3,9 c	11
ESx (±)					1,06	1,05	
CV (%)					0,20	0,22	

¹⁾ Cifras que comparte letras en común, en la misma columna, no difieren significativamente para $P \leq 0,05$

Enraizamiento y Endurecimiento

El 100% de las vitroplantas presentó enraizamiento completo, tanto las mantenidas en el medio de proliferación, como las pasadas al medio de enraizamiento, lo que sugiere la posibilidad de suprimir esta etapa. En la fase de Endurecimiento el 100% de las vitroplantas fue endurecido en ambos tratamientos, sin diferencias significativas entre ellos a los 60 días (Tabla 8).

Trasplante, Almacenamiento o Exportación

Trasplantadas al campo, las vitroplantas produjeron una media de 14:1 “semilla” (básicas:original). Además, se ajustó un procedimiento, para producir “microsemillas agámicas” a partir de vitroplantas, y su conservación, hasta la entrega a la producción para su plantación o exportación. El uso de películas de permeabilidad selectiva (Cañet, *et al.*, 1996) para envases y de cámaras frigoríficas (4°C-7°C) mantuvo la calidad de la “microsemilla agámica”, hasta tres meses sin afectación de la calidad.

Producción de “Semilla” de Malanga a Escala Comercial, por Métodos no convencionales

Producción de Donantes Axénicos

Con la aplicación del Pretratamiento establecido, los donantes quedaron libres de contaminantes apreciables, después de 15 subcultivos.

Micropropagación en un Módulo de 40 000 Vitroplantas

El cronograma propuesto con el método ajustado, se cumplió totalmente y al cierre del primer año se sobrepasaron las 300 000 vitroplantas producidas.

Producción de “Zeoplántulas”

La producción de “zeoplántulas”, se inició con éxito, pues en 20 días de labor, dirigida por el personal que fue seminariado, se produjeron 25 000 “zeoplántulas”. La unidad productiva del INIVIT, fue explotada con éxito, pues se estabilizó una producción diaria de 5 000 “zeoplántulas”, que permitió plantar 1 ha, cultivada hasta la cosecha, la que mostró las potencialidades del método para la producción de “semilla”, con 98% de brotación, con un incremento del índice de producción entre 10:1 y 30:1, según el clon.

Esquema para la Producción de “Semilla” Categorizada, Convencional de Malanga

Fincas Especiales

Las áreas plantadas a 5 Km. ó más de las plantaciones comerciales de malanga, permanecieron libres de virus. Sin embargo, al concluir el primer año de cultivo, la parcela testigo presentaba 0,2% de plantas virosas. El DsMV es capaz de ser reinoculado en las plantas libres de virus, cuando el fondo provocativo se halla a poca distancia (800 m en este caso). Se demostró por primera vez que si la “semilla” original se halla libre del virus al 100%, el DsMV

no se reinocula, en condiciones geográficamente aisladas. El rendimiento promedio fue de 14,6:1 (básica:original).

Fincas Municipales de Semilla

No se detectó la presencia de virus en las plantaciones de malanga. El rendimiento de la producción de “semilla” fue de 8:1 (registrada:básica).

Fincas Autorizadas de Semilla

El esquema que se aplicó, permitió una producción promedio de “semilla”, de 6:1 (certificada:registrada).

Con la presencia del DsMV-S, y la eficiencia de sus vectores, desde el primer año que se puso en contacto la planta de malanga libre de virus con la fuente de inóculo, se aseguró el 100% de la reinoculación (Tabla 4). La aplicación de nuevas condiciones y procedimientos, necesarios para la producción de “semilla” de malanga de categoría (original, básica, registrada y certificada) con alta productividad, aseguran el éxito en el cultivo. El esquema de producción de “semilla” de malanga desarrollado aquí, incluye desde la producción de “semilla” original por procesos biotecnológicos, de alta productividad; de “semilla” básica, con gran efectividad en las Fincas Especiales; de “semilla” registrada, en las Fincas Municipales de Semilla; y la “semilla” certificada, en Fincas Autorizadas de Semilla, las que la entregan a la producción.

CONCLUSIONES

1–Se elaboró un procedimiento biotecnológico, con el que **fue eliminado el DsMV** del material de propagación, con 100% de eficiencia.

2–La **recuperación de los potenciales productivos** de clones comerciales, fue lograda. La **presencia del virus en la “semilla”**, es uno de los factores que más influye en la disminución de los rendimientos.

3–Se observó un deterioro de los rendimientos, de importancia económica en algunos clones comerciales, en condiciones de campo, desde el **cuarto año de inoculado el DsMV-S** en la “semilla” de malanga libre de virus. Este **deterioro fue impedido**, a más del 80%, en malanga **preinmunizadas con el aislado DsMV-B**, procedimiento aplicado a la “semilla”, a **modo de “vacunación”**.

4–Se diseñó y puso en práctica un sistema biotecnológico de **micropropagación *in vitro* de la malanga**, con gran eficiencia productiva, en el que se destaca:

- Un **Pretratamiento** específico para eliminar la microbiota local.
- El **Establecimiento** de la malanga para su cultivo *in vitro*, en **7-10 días**.
- Un medio de cultivo que introdujo la **nueva Fase de Preproliferación**.
- La **disminución de los reguladores del crecimiento** a la mitad de lo requerido para la **Proliferación** de la malanga.
- La **eliminación de la Fase de Enraizamiento**, que quedó opcional.

5—La definición de un procedimiento sencillo para la **producción de “microsemillas agámicas”** de malanga, a partir de vitroplantas, como una opción en la Fase de Endurecimiento, para el “**almacenamiento**” de la producción, o su **exportación**. Estos resultados representaron: **ahorro de tiempo, de manipulaciones y de materiales**, con incremento productivo.

6—Se creó una metodología para la producción de “semilla” de malanga, de alta productividad, con bajos requerimientos de insumos, que resultó una patente de invención de la República de Cuba y constituye un **método no convencional de producción de “semillas” agámicas**.

7—Se definió un nuevo y breve **esquema de campo para la producción de “semilla” de malanga**, categorizada, convencional y comercial.

8—El aporte de los resultados obtenidos, tiene un valor incalculable, tanto social, científico, como económico, si se tiene en cuenta que solamente la explotación del cultivo de la malanga, plantada con “semilla” inmunizada, y con alta tecnología de cultivo, puede aportar más de \$100 000,00 de ganancias por hectárea.

RECOMENDACIONES

1. Producir la "semilla" de malanga certificada libre del DsMV, y el diagnosticador elaborado para este virus.
2. Revisar los índices productivos de los clones cultivados de malanga.
3. Estudiar el clon ‘Macal Sport’, pues pudiera ser de los más productivos en Cuba y su ciclo de cultivo, se halla entre los más precoces.
4. Producir “semilla” preinmunizada contra el DsMV-S, para las zonas donde se encuentre distribuido el DsMV.
5. Establecer la metodología de cultivo *in vitro* definida aquí, para la multiplicación de la malanga, previa identificación de las virosis.
6. Aplicar el Microzeopónico (MZ), como alternativa de grandes posibilidades en los lugares más recónditos.

7. Explotar el Módulo de 40 000 vitroplantas para producir la “semilla” **original**, con los tres integrantes del esquema: 1) Fincas Especiales (para la “semilla” **básica**) 2) Fincas Municipales (para la “semilla” **registrada**) y 3) Fincas Autorizadas (para la “semilla” **certificada**).

BIBLIOGRAFÍA

1. BRUNT, A.A.; K. CRABTREE, M.J. DALLWITZ, A.J. GIBBS, L. WATSON, AND E.J. ZURCHER (Eds.) (1996 onwards). Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 16th January 1997. URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>, 1997.
2. CAÑET, F.M.; MIRIAM GORDILLO; MICHELY VEGA LEONO PÉREZ. Conservación de vegetales y flores en bolsas de permeabilidad selectiva. VIII Jornada Científica del INIFAT. Talleres: Las Ciencias Agrícolas en el contexto cubano. La Habana. Resúmenes p. 65 17-19/Sept./1996.
3. DIRECCION NACIONAL DE CULTIVOS VARIOS. 20 años de producción de Cultivos Varios. Resumen Nacional. Malanga. MINAG. Ciudad Habana. 1985.
4. McINTYRE, J.L.; J.A. DODDS, AND J.D. HARE. Effects of localized infections of *Nicotiana tabacum* by Tobacco mosaic virus on systemic resistance against diverse pathogens and an insect. *Phytopathology* 71 (3): 297-310, 1981.
5. MINAG. Pronóstico de los rendimientos agrícolas y pecuarios. Unidad de Pronósticos y Estudios Económicos Agropecuarios. Ministerio de la Agricultura. La Habana. Mimeografiado 31 p. Julio, 1986.
6. MINAG. Instructivo Técnico de la Malanga *Xanthosoma*. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Ministerio de la Agricultura. Cuba. 6 p. 1988.
7. MINAG. Datos Estadísticos. Dirección Nacional de Cultivos Varios, Dpto. de Estadísticas, Ministerio de la Agricultura. 1997.
8. MINAG. Instructivo Técnico sobre el Cultivo de la Malanga. Sedagri/Agrinfor. Ciudad Habana. 1998.
9. PRICE, W. C. Virus concentration in relation to acquired immunity from tobacco ringspot. *Phytopathology* 26: 503-529, 1936.
10. PRICE, W. C. Strains, mutations, acquired immunity, and interference. *In: Plant Virology*. Corbett, M. K. And H. D. Sisler, Ed. Univ. Florida Press, Gainesville, Chap. 5, pp. 93-114, 1964.
11. RODRIGUEZ MANZANO, ARLENE. Caracterización de germoplasma y variabilidad infraespecífica en *Colocasia esculenta* (L.) Schott en Cuba. Tesis doctoral. U.H. Fac. Biología-INIFAT, 100 pp. Ciudad Habana, Cuba. 2001.
12. SALAMAN, R. N. Plant virus inhibition. *Nature* 139: 924, 1937.