



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Trabajo de Tesis

Micropropagación de *Xanthosoma violaceum* (L.) Schott var. “Lila”: efecto de reguladores de crecimiento en el establecimiento y multiplicación

Autores

Br. Uriel Esteban Rizo

Br. Keyvin Josué Leiva Roque

Asesores

M.Sc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga

M.Sc. Roxana Yadira Cruz Cardona

Ing. Cruz Alejandro Hernández Herrera

Presentado a la consideración del Honorable Comité
Evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Noviembre, 2025

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el Honorable Comité Evaluador designado por la Dirección de Ciencias Agrícolas como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

M.Sc. Jorge Antonio Gómez Martínez
Presidente

Lic. Rene Alfonso Vado Hernández
Secretario

Ing. Tatiana Eunice Rivas
Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 6/11/25

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación es dedicado especialmente a **DIOS PADRE** creador del universo y todo lo que en él se encuentra, por permitirme la vida, la salud, misericordia y entendimiento durante mi formación profesional sabiendo que el principio de la sabiduría es el temor a Jehová.

A mi madre **Isabel del Rosario Rizo Rizo**, por su amor inquebrantable e incondicional, su ejemplo, persistencia y enseñanza a través de su vida ejemplar quien ha sido mi mayor inspiración en todos los años que han sido parte de mi formación personal y profesional, ella ha sido de gran importancia para así cumplir con cada sueño y propósitos. Estos logros también son de ella.

A mi abuela **Juliana Rizo Sobalvarro** que fue un gran ejemplo de humildad, fe, persistencia, constancia, sabiduría y gran amor hacia nuestra familia durante todos los años que Dios le permitió estar con nosotros físicamente y que ahora goza de la vida eterna.

A mi tía **Dolores de Jesús Rizo Rizo** quien ha sido parte fundamental durante estos años siendo una fuente de apoyo moral, espiritual y económica para así ayudarme a alcanzar el sueño de convertirme en un profesional.

A mi familia que han sido de gran importancia para alcanzar este sueño que por años han sido fuente de inspiración, consejos enseñanzas, ejemplo y oraciones que fueron de gran bendición en cada momento.

A mis amigos, compañeros y a todos aquellos que formaron parte en las diferentes etapas de estudio desde primaria regular, secundaria y universidad. También por aquellos que no pudieron culminar sus estudios ya sea por situaciones económicas, laborales y aquellos que ya no están físicamente en este mundo.

Esta tesis es el resultado de años de esfuerzos, dedicación, persistencia, constancia, disciplina, paciencia y apoyo de todos ustedes a quienes dedico con mucho amor y agradecimiento sincero.

Br. Uriel Esteban Rizo

DEDICATORIA

A ***DIOS, CREADOR*** de todas las cosas, el que me ha dado la fortaleza y sabiduría para superar cada desafío durante mi formación como profesional, por haberme guiado y permitirme avanzar hasta alcanzar esta meta.

A mi madre, **Martha Isabel Roque Laguna** por su amor incondicional, entrega y sabias enseñanzas durante toda la trayectoria ayudaron a no rendirme y seguir con mi propósito. Por darme las herramientas y el respaldo necesario para alcanzar esta meta profesional, este logro es también suyo.

A mi familia, por ser mi refugio y fuente de inspiración. Su apoyo constante, cariño y confianza fueron fundamentales en este camino.

A mis amigos, compañeros tanto en la vida como en el estudio, por su amistad genuina, sus palabras de aliento, por el tiempo compartido entre libros, conversaciones y distracciones, su apoyo ha hecho este trayecto más ameno y valioso.

Esta tesis es el resultado de un trabajo conjunto y del apoyo constante que he recibido. Le dedico con profundo agradecimiento y aprecio a todos ustedes.

Br. Keyvin Josué Leiva Roque

AGRADECIMIENTO

A mi padre **DIOS**, por ser mi mayor fortaleza quien en cada minuto y momento durante estos años me ha permitido llegar con éxito a cada meta que me he propuesto, sin el nada es posible.

A mi madre **Isabel del Rosario Rizo Rizo** por ser fundamentalmente importante los años de preparación desde el inicio hasta la actualidad.

A mi abuela **Juliana Rizo Sobalvarro** por su gran ejemplo, consejos, valores y enseñanzas que hoy son el fruto de cada momento de aquellas pláticas amenas.

A mi tía **Dolores de Jesús Rizo Rizo** por su apoyo incondicional en cada momento de mi educación profesional y personal teniendo como ejemplo su personalidad y valores.

A toda mi familia que de una u otra manera han contribuido incondicionalmente en cada sueño que me he propuesto a lo largo de todos estos años y en aquellos que aún están por cumplirse.

A mis maestros y hoy mis asesores **M.Sc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga** y **M.Sc. Roxana Yadira Cruz Cardona**, quienes durante estos años me han dado sus enseñanzas tanto en salones de clases como en campo compartiendo conocimientos, enseñanzas y experiencias que son de suma importancia para mi formación personal y profesional. Todo lo recibido de parte de ellos serán de gran aporte en mi futuro.

A la Universidad Nacional Agraria, por abrir sus puertas para convertirse en mi segundo hogar durante estos años de formación profesional y personal, puertas que hoy se han convertido de gran importancia para entrar al mundo del conocimiento agrícola.

A don **José Ariel Ruiz** propietario de Agroquímicos del Norte (AGRONORTE-JINOTEGA), por apoyarme económicamente, moralmente y aportando valores de humildad, persistencia, constancia, perseverancia y disciplina.

A **Lic. Valesky Jarquín González** por apoyarme especialmente con conocimientos, motivación y equipo tecnológico que fueron de gran importancia para la realización de los diferentes trabajos asignados durante todos estos años.

Br. Uriel Esteban Rizo

AGRADECIMIENTO

A **DIOS**, por haberme permitido llegar hasta esta fase, por guiar mi mente y mi corazón; por darme la perseverancia necesaria, reconozco que, sin su misericordia no habría sido posible alcanzar esta meta.

Expreso mi más sincera gratitud a mi madre, **Martha Isabel Roque Laguna** por estar conmigo en este importante recorrido, por ofrecerme su respaldo sin reservas y por los sacrificios que hizo para que pudiera culminar mis estudios.

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de los años, acompañándome en cada uno de mis logros personales y académicos. A pesar de las dificultades, siempre estuvieron a mi lado.

Mis asesores, **M.Sc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga** y **M.Sc. Roxana Yadira Cruz Cardona**, por brindarme su tiempo, amistad y por compartir generosamente su conocimiento fruto de años de experiencia. Su guía ha sido clave en mi desarrollo profesional.

Así mismo, extendiendo mi gratitud a todo el equipo del Laboratorio de Cultivo de Tejidos in vitro de la UNA, por su colaboración y disposición durante el desarrollo de este estudio. Su entusiasmo y actitud positiva contribuyeron a crear un ambiente de trabajo agradable y motivador.

A mis compañeros, que con el tiempo se transformaron en verdaderos amigos, les agradezco por todos los momentos compartidos y las aventuras vividas a lo largo de estos cinco años.

Finalmente, y no por ello menos importante, extendiendo mi agradecimiento a mi alma mater la Universidad Nacional Agraria, por haberme abierto sus puertas y brindado el espacio necesario para hacer posible este camino.

Br. Keyvin Josué Leiva Roque

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Fundamentos del cultivo de tejidos vegetales <i>in vitro</i>	4
3.2 Estrategias de regeneración <i>in vitro</i>	4
3.3 Métodos de micropropagación	5
3.3.1 Multiplicación axilar y organogénesis	5
3.3.2 Cultivo de brotes	5
3.4 Fases del proceso de micropropagación	6
3.5 Regulación hormonal en la fase de multiplicación	7
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	9
4.1. Ubicación del estudio	9
4.2. Material vegetal	9
4.3. Diseño experimental de la investigación	10
4.3.1. Medio de cultivos base	10
4.3.2. Tratamientos establecidos en cada fase	10
4.2.3 Tamaño de la muestra	12
4.4. Manejo del ensayo	13
4.5. Variables evaluadas a los dos tipos de tejidos	14
4.6. Fase de establecimiento	14

4.7.	Fase de multiplicación	14
4.8.	Análisis de datos	14
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
5.1	Fase de establecimiento con ACM	16
5.2	Fase de establecimiento con AR	19
5.3	Fase de multiplicación	23
5.3.1	Primer subcultivo con tejidos ACM	23
5.3.2	Segundo subcultivo con tejidos ACM	26
5.3.3	Tercer subcultivo con tejidos ACM	28
5.3.4	Primer subcultivo con tejidos de AR	30
5.3.5	Segundo subcultivo con tejidos de AR	32
5.3.6	Tercer subcultivo con tejidos de AR	34
5.3.7	Número de tejidos por frasco ACM	36
5.3.8	Número de tejidos por frasco AR	37
VI.	CONCLUSIONES	40
VII.	RECOMENDACIONES	41
VIII.	LITERATURA CITADA	42

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Combinaciones de AIA y 6-BAP ensayadas en la fase de establecimiento	11
2.	Combinaciones de AIA y de 6-BAP ensayadas en la fase de multiplicación	11
3.	Longitud de plantas, número de hojas y longitud de brotes a los 60 días de establecidos de ACM de la variedad “Lila”	18
4.	Longitud de plantas, número de hojas y longitud de brotes a los 60 días de establecidos AR	21
5.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el primer subcultivo de plantas obtenidas de Ápices de corno madre ACM de la variedad “Lila”	24
6.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el segundo subcultivo de plantas obtenidas de Ápices de corno madre (ACM) de la variedad “Lila”	27
7.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el tercer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de corno madre (ACM) de la variedad “Lila”	29
8.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el primer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”	31
9.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el segundo subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”	33
10.	Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el tercer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”	35
11.	Longitud de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en plantas obtenidas de ápices de cormos madres (ACM) de la variedad “Lila”	37
12.	Longitud de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”	38

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Material vegetal utilizado para el establecimiento de los cultivos. a) Plantas donadoras. b) Cormo de planta madre. c) Ápice de cormo madre (ACM) de la variedad “Lila”.	9
2. a) Rebrote en cantero a los 45 días. b) Cormo del rebrote. c). Ápice de rebrote (AR).	10
3. Fase de establecimiento, realizando la disección de los tejidos con la ayuda de bisturí hasta reducirlas a un tamaño aproximado de 2 cm de largo y 1 cm de ancho.	13
4. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila” a los 30 días de establecidos en 9 variantes de medios de cultivo.	16
5. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila” a los 45 días de establecidos en 9 variantes de medio cultivo.	17
6. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila”, a los 60 días de establecimiento en nueve variantes de medio de cultivo.	17
7. Diferenciación de ACM de la variedad “Lila”: de izquierda a derecha: (a) ápice color marrón (b) ápice color verde (c) color verde con brote axilar (d) planta formada.	18
8. Porcentaje de color verde, color marrón y planta formada de AR a los 30 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.	19
9. Porcentaje de color verde, color marrón y planta formada de AR a los 45 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.	20
10. Porcentajes de color verde, color marrón y planta formada en AR a los 60 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.	22
11. Plantas regeneradas de ACM de la variedad “Lila” primer subcultivo. Porcentajes de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces, centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	25
12. Plántula de la variedad lila en fase de multiplicación.	25
13. Plantas regeneradas de ACM de la variedad “Lila” segundo subcultivo. Escala de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces, centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
14	Plantas regeneradas de ACM de la variedad “Lila” tercer subcultivo. Escala de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces , centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	30
15.	Plantas regeneradas de AR de la variedad “Lila” primer subcultivo. Escala de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces, centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	31
16.	Plantas regeneradas de AR de la variedad “Lila” segundo subcultivo. Escala de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces, centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	34
17.	Plantas regeneradas de AR de la variedad “Lila” tercer subcultivo. Escala de emisión de raíces por planta: izquierda plantas sin raíces, centro plantas con emisión de 1 a 3 raíces, derecha plantas con emisión de 4 o más raíces.	36

RESUMEN

El quequisque es un cultivo de gran valor nutricional y económico en regiones tropicales, pero enfrenta limitaciones en la producción de semilla eficiente, ya que la propagación tradicional mediante cormos y cormelos presenta baja multiplicación y riesgo de patógenos y variabilidad genética. Como alternativa, la propagación *in vitro* ofrece una opción biotecnológica eficaz para obtener plantas sanas, uniformes y disponibles durante todo el año. La investigación se realizó entre los meses comprendidos de mayo de 2024 a mayo de 2025, en el laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencias Agrícolas (DCA) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) ubicada en el Km. 12 ½ carretera norte, Managua, Nicaragua. El estudio evaluó la respuesta de explantes de yemas axilares (ACM) y ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila” de *Xanthosoma violaceum* (L.) Schott. en las fases de establecimiento y multiplicación, considerando diferentes combinaciones de auxina (AIA) y citoquinina (6-BAP) y la densidad de explantes por frasco. En la fase de establecimiento, la adición de 6-BAP fue fundamental para prevenir la oxidación de los tejidos y favorecer la diferenciación hacia plantas, con un desempeño superior en ACM respecto a AR. El tratamiento T₇ (0 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP) resultó más eficiente para ACM, mientras que T₅ (0.5 mg L⁻¹ de AIA + 1 mg L⁻¹ de 6-BAP) fue óptimo para AR, destacando la importancia de ajustar la concentración de reguladores según el tipo de explante. Durante la fase de multiplicación, los tratamientos con 6-BAP promovieron significativamente la brotación en ambos tipos de tejidos, especialmente en combinaciones de 2 mg L⁻¹ de 6-BAP con 0.25-0.50 mg L⁻¹ de AIA para ACM y combinaciones intermedias en AR. La longitud de planta fue mayor en los tratamientos sin 6-BAP, mientras que la adición de citoquinina favoreció el número y la longitud de brotes, así como el número de hojas por brote. En la densidad de siembra de explantes por frasco no presentaron diferencias en el número de brotes axilares tanto con fuente de tejidos ACM y AR.

Palabras claves: *Xanthosoma* spp., micropropagación, reguladores de crecimiento

ABSTRACT

The taro root is a crop of high nutritional and economic value in tropical regions, but it faces limitations in efficient seed production, as traditional propagation using corms and cormels results in low multiplication rates and is subject to pathogens and genetic variability. As an alternative, *in vitro* propagation offers an effective biotechnological option for obtaining healthy, uniform plants available year-round. The research was conducted between May 2024 and May 2025 in the Plant Tissue Culture Laboratory of the Department of Agricultural Sciences (DCA) at the National Agrarian University (UNA), located at Km. 12 ½ Carretera Norte, Managua, Nicaragua. The study evaluated the response of axillary bud (ACM) and shoot apex (AR) explants of the “Lila” variety of *Xanthosoma violaceum* (L.) Schott. In the establishment and multiplication phases, different combinations of auxin (IAA) and cytokinin (6-BAP) and the explant density per flask were considered. In the establishment phase, the addition of 6-BAP was essential to prevent tissue oxidation and promote differentiation into plants, with superior performance in ACM compared to AR. Treatment T₇ (0 mg L⁻¹ IAA + 2 mg L⁻¹ 6-BAP) was more efficient for ACM, while T₅ (0.5 mg L⁻¹ IAA + 1 mg L⁻¹ 6-BAP) was optimal for AR, highlighting the importance of adjusting the concentration of regulators according to the type of explant. During the multiplication phase, treatments with 6-BAP significantly promoted sprouting in both tissue types, especially in combinations of 2 mg L⁻¹ of 6-BAP with 0.25-0.50 mg L⁻¹ of IAA for ACM and intermediate combinations for AR. Plant length was greater in treatments without 6-BAP, while the addition of cytokinin favored the number and length of shoots, as well as the number of leaves per shoot. No differences were observed in the number of axillary shoots at the sowing density of explants per flask, regardless of whether the tissue source was ACM or AR.

Keywords: *Xanthosoma* spp., micropropagation, growth regulators

I. INTRODUCCIÓN

El quequisque *Xanthosoma violaceum* (L.) Schott, pertenece a la familia aráceae. El género *Xanthosoma* está conformado por 45 especies muy difíciles de diferenciar, de las que se cultivan principalmente: *X. sagittifolium*, *X. atrovirens*, *X. violaceum* y *X. lindenii* (López y Vásquez, 1995).

Al quequisque se le nombra de diferentes formas de acuerdo con el país, así en Venezuela se le llama “ocumo”, en Colombia “mafafa”, en Costa Rica “tiquisque”, en Cuba “malanga” y en México “quequeste”. Es una planta originaria de América, que fue cultivada en la región del caribe y el resto del continente antes del descubrimiento, y que en la actualidad se cultiva en Centroamérica, Sudamérica y ciertos países de África donde es consumido como alimento en dietas de hospitales, hogares de ancianos y guarderías (López y Vásquez, 1995). Constituye un cultivo importante para más de 400 millones de personas que habitan áreas tropicales y subtropicales alrededor del mundo (Onokpise y Charles, 1994).

Como otros cultivos de raíces y tubérculos, las estructuras subterráneas del quequisque son una fuente importante de carbohidratos, grasas, vitaminas y aminoácidos para la alimentación humana y animal (Nyochembeng y Garton, 1998). El tamaño del grano de almidón del quequisque es extremadamente pequeño (3 μ m), lo que permite que sea recomendado por su alta digestibilidad (López y Vásquez, 1995).

El quequisque es el tercer cultivo farináceo más consumido en Nicaragua después de la patata *Solanum tuberosum* (L.) y de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). En los últimos años las áreas de siembra se han reducido drásticamente debido al daño que provocan en los cormos y cormelos el hongo *Phyhtium myriotylum* causante principal del mal seco y en el follaje el virus conocido como Dasheen Mosaic Virus (DMV) aunque no es letal, retrasa el crecimiento y el rendimiento del cormo en los diferentes genotipos de quequisque (Reyes y Aguilar, 2005).

La variedad lila demanda de altas condiciones de humedad por eso se debe sembrar bajo riego, lo que incrementa los costos de producción y justifica su destino a mercados externos principalmente Puerto Rico y Estados Unidos. Las hojas presentan un color verde oscuro, el color de la pulpa de la variedad tiene una tonalidad lila tenue.

Los procesos de propagación asexual son particularmente importantes en quequisque porque permiten mantener invariables las características del progenitor a los descendientes, además éstos se desarrollan con mayor rapidez, es fácil obtención del material de reproducción y cambios genéticos sobresalientes en el genotipo de una planta permiten desarrollar a partir de él un nuevo clon o variedad. Los métodos convencionales de propagación vegetativa en quequisque tienen el inconveniente que es reducida la cantidad de material de reproducción que se obtiene, y requieren mucho tiempo para el suministro de grandes volúmenes de semilla. Estas limitantes han conducido al desarrollo técnicas más eficientes de propagación a través del cultivo de tejidos.

Con el empleo de la micropropagación en quequisque se ha favorecido la obtención de semilla de mayor calidad debido a que se garantiza el saneamiento de plagas y enfermedades de origen bacteriano y fungosas; además del gran volumen de plantas que se pueden producir en corto período de tiempo y en áreas reducidas (Ramírez, 1985). Sin embargo, la micropropagación se ve limitada por el tiempo necesario para la obtención de plantas sanas y por la baja tasa de multiplicación (Gómez, 1998).

García (1,999) destaca que en quequisque la proliferación del cultivo *in vitro* en un sistema semiautomático de inmersión temporal fue altamente significativo en relación con el crecimiento en medio convencional destacando el acortamiento del tiempo entre subcultivos, fácil renovación del medio y esterilización del medio por ultrafiltración.

Una técnica de propagación *in vitro* que mejora la tasa de multiplicación, es la regeneración de plantas a través de embriogénesis somática. En quequisque, Nyochembeng y Garton (1998) y Gupta (1985) atribuyen la regeneración de planta a partir de callos a procesos organogénicos, mientras que Dottin (2000) considera que es debido procesos de embriogénesis somática, coincidiendo con Gómez *et al.* (1992) que por medio de estudios histológicos confirmaron el proceso de embriogénesis somática.

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar una metodología para la multiplicación de plantas de la variedad de quequisque ‘Lila’ mediante organogénesis directa, abarcando las fases de establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Desarrollar un protocolo para la multiplicación *in vitro* de plantas de quequisque *Xanthosoma violaceum* var. “Lila”, utilizando como fuentes de explantes yemas apicales del cormo madre y de rebrotes, en las fases de establecimiento y multiplicación.

2.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento Ácido Indolacético (AIA) y Bencil aminopurina (6-BAP) en la fase de establecimiento *in vitro* de tejidos de yema apicales de cormo madre (ACM) y de yema apicales de rebrotes (AR) de quequisque *Xanthosoma violaceum* variedad "Lila".

Determinar el efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP en la multiplicación *in vitro*, utilizando como fuentes de tejido las yemas apicales del cormo madre (ACM) y de rebrotes (AR) durante tres subcultivos.

Evaluar el efecto del número de tejidos por frasco en la longitud del tallo, el número de hojas, el número de brotes y el número de raíces, empleando yemas apicales provenientes del cormo madre (ACM) y de rebrotes (AR).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Fundamentos del cultivo de tejidos vegetales *in vitro*

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* comprende un conjunto de técnicas y procedimientos que permiten el cultivo de células, tejidos u órganos vegetales en medios nutritivos artificiales, con el objetivo de regenerar plantas completas. El principio fundamental que sustenta esta técnica es la totipotencia celular, es decir, la capacidad de una célula vegetal para regenerar nuevos tejidos, órganos y una planta entera (Pierik, 1987).

La propagación por medio del cultivo de tejidos se conoce como micropropagación, y según George y Debergh (2008), los métodos teóricos disponibles para la propagación *in vitro* de plantas incluyen:

- La multiplicación a partir de brotes o yemas axilares preexistentes, promoviendo su crecimiento y proliferación.
- La formación *de novo* de brotes o embriones somáticos, la cual puede ocurrir:
 - a) directamente a partir de porciones de tejido u órganos (explantes), o
 - b) indirectamente a partir de células o tejidos desorganizados, como suspensiones celulares o cultivos de callo.

La creación de una nueva forma y organización, donde previamente no existía, se denomina morfogénesis u organogénesis, y puede manifestarse como caulogénesis (formación de brotes), rizogénesis (formación de raíces) o embriogénesis somática (George y Debergh, 2008).

3.2 Estrategias de regeneración *in vitro*

El éxito del cultivo de tejidos depende de factores fisiológicos y genéticos del material vegetal empleado. Los explantes obtenidos de plantas jóvenes o de zonas de crecimiento activo presentan una respuesta más favorable que aquellos provenientes de plantas adultas o yemas en reposo; cuanto más juvenil es el tejido, mayor es su capacidad de regeneración (George, 1993; Debergh y Vandershaeghe, 1996).

Asimismo, la respuesta de los explantes está influida por la interacción entre el genotipo y las condiciones de cultivo. Caligari y Powell (1989) demostraron que treinta genotipos de *Solanum tuberosum* L. reaccionaron de manera diferencial a la temperatura y a la concentración de

sacarosa, evidenciando la importancia de ajustar los factores ambientales y nutricionales según el material vegetal empleado.

3.3 Métodos de micropropagación

3.3.1 Multiplicación axilar y organogénesis

En la práctica, la mayoría de las plantas micropropagadas se obtienen mediante la proliferación de brotes o yemas axilares preexistentes, debido a que este método garantiza mayor estabilidad genética y uniformidad clonal. Sin embargo, algunas especies pueden regenerarse a través de organogénesis directa o indirecta.

El método de propagación de yemas axilares es muy similar al de segmentos nodales, diferenciándose principalmente en que, en este último caso, se emplean plantas con tallos largos y no se requiere necesariamente el uso de citoquininas para el desarrollo de las yemas. En la práctica, ambos métodos suelen combinarse: se permite que una yema se desarrolle y posteriormente se adiciona citoquinina para inducir la formación de nuevos brotes (Pierik, 1987).

Los dos procedimientos más utilizados en micropropagación son:

- *Cultivo de brotes*: busca la multiplicación repetida de yemas axilares. Los brotes obtenidos sirven como nuevos explantes para sucesivos subcultivos y, finalmente, se enraízan para producir plántulas que se desarrollarán *in vivo* (George, Hall, & De Klerk, 2008).
- *Cultivo de nodos*: utiliza segmentos de tallo con una o más yemas axilares, aprovechando la eliminación de la dominancia apical para estimular el crecimiento lateral.

Ambos métodos dependen del estímulo del crecimiento de los brotes axilares mediante la supresión de la dominancia apical, lo cual se logra con el uso de citoquininas o con técnicas físicas, como el pinzado del ápice.

3.3.2 Cultivo de brotes

El cultivo de brotes suele iniciarse a partir de ápices laterales o principales mayores de 20 mm de largo, separados de brotes en crecimiento activo o de yemas dormantes. Los explantes

grandes presentan ventajas como mayor supervivencia, inicio rápido del crecimiento y presencia de un mayor número de yemas axilares; sin embargo, también aumentan el riesgo de contaminación microbiana (George et al., 2008).

Cuando se utilizan ápices meristemáticos, el cultivo permite eliminar virus y bacterias, obteniendo plantas libres de patógenos. No obstante, al partir de explantes muy pequeños, generalmente solo se produce una planta por explante (Villalobos y García, 1982; Jiménez, 1998).

El estado fisiológico de la planta donante y la época del año en que se recolectan los explantes influyen significativamente en la respuesta del cultivo (Styler et al., 1983, citado por Jiménez, 1995). Por ejemplo, en especies e híbridos de *Prunus*, los brotes enraizaron mejor cuando los explantes se colectaron a mediados de junio que a mediados de julio (Ranjit et al., 1988, citado por George, 1993).

El tamaño del explante también afecta el balance entre contaminación y regeneración: los explantes pequeños reducen la contaminación, pero presentan menor capacidad regenerativa, mientras que los grandes favorecen el crecimiento, pero incrementan el riesgo de infección (Villalobos y García, 1982).

3.4 Fases del proceso de micropropagación

Murashige (1974) definió tres fases fundamentales en el proceso de micropropagación:

- Establecimiento del cultivo aséptico.
- Proliferación o multiplicación de brotes.
- Enraizamiento o formación de plántulas.

Posteriormente, Debergh y Maene (1981) agregaron una Fase 0, correspondiente a la preparación de la planta madre, y una Fase IV, que consiste en la aclimatación de las plántulas a condiciones externas.

Durante el establecimiento (Fase I), el tipo, tamaño, edad fisiológica y época de recolección del explante son determinantes para el éxito del cultivo (Murashige, 1974; Auge y Boccon-Gibod, 1984). El medio de Murashige y Skoog (1962) es el más empleado, aunque a veces debe

modificarse para evitar toxicidad por exceso de sales. Un problema frecuente en esta fase es la oxidación fenólica, que causa el ennegrecimiento del medio y puede inhibir el crecimiento o provocar la muerte del explante (George, 1993; Vaughn, 1984; Preece y Sutter, 1991).

En la Fase II, se busca producir nuevos propágulos capaces de desarrollarse como plantas completas. La multiplicación puede lograrse por brotes axilares, adventicios o embriones somáticos. La elección del método es clave para mantener la estabilidad genética del material vegetal (Debergh y Maene, 1983).

Aunque los métodos basados en yemas axilares presentan bajas tasas de multiplicación, garantizan la fidelidad genética, mientras que la organogénesis y la embriogénesis somática permiten mayores rendimientos, con un posible riesgo de variación somaclonal (Murashige, 1974; Hu y Wang, 1983).

El genotipo es uno de los factores más importantes, ya que la respuesta *in vitro* varía entre especies, variedades o clones, afectando sus requerimientos hormonales y nutricionales (Jiménez, 1998). En algunos casos, los genotipos recalcitrantes requieren ajustes específicos en el balance de auxinas y citoquininas para alcanzar tasas adecuadas de multiplicación (George, 1993).

3.5 Regulación hormonal en la fase de multiplicación

El crecimiento y la proliferación de brotes axilares en cultivos de tejidos están regulados principalmente por las citoquininas, que eliminan la dominancia apical y estimulan el desarrollo de brotes laterales. La relación citoquinina/auxina resulta fundamental:

- Altas concentraciones de citoquininas y bajas de auxinas favorecen la formación de yemas axilares.
- Concentraciones moderadas de ambas hormonas inducen la formación de brotes adventicios.
- Altas dosis de auxinas promueven la formación de callo y, posteriormente, la embriogénesis somática (Murashige, 1974; Hu y Wang, 1983).

Asimismo, la aplicación de técnicas físicas, como el pinzado del ápice o la disposición horizontal del explante, puede reducir la dominancia apical y aumentar la ramificación,

fenómeno observado en especies como *Rosa spp.*, *Malus spp.*, *Pistacia spp.* y diversas plantas leñosas.

Los avances en la micropropagación han permitido mejorar la composición de los medios de cultivo, optimizar las condiciones hormonales y aumentar la eficiencia de multiplicación, logrando plantas uniformes, libres de virus y de alta calidad genética. Esta técnica constituye hoy una herramienta esencial para la producción masiva de material vegetal y la conservación de germoplasma en la agricultura moderna.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio

El presente estudio se realizó entre los meses comprendidos de mayo de 2024 a mayo de 2025, en el laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencias Agrícolas (DCA) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) ubicada en el Km. 12 ½ carretera norte, Managua, Nicaragua. Geográficamente se localiza entre las coordenadas 12°08' latitud norte y 86°10' longitud oeste con una altitud de 56 msnm. Todos los experimentos que se presentan en esta memoria han sido realizados en la variedad de quequisque *Xanthosoma violaceum* (L.) Schott “Lila”.

4.2. Material vegetal

Para el experimento de establecimiento se extrajeron ápices de corno madre (ACM) Figura 1.



Figura 1. Material vegetal utilizado para el establecimiento de los cultivos. a) Plantas donadoras. b) Corno de planta madre. c) Ápice de corno madre (ACM) de la variedad “Lila”.

Asimismo, se extrajeron ápices de rebrotes (AR) obtenidos a partir de yemas axilares previamente establecidas en canteros. Estas yemas, tras brotar y desarrollar pseudotallos, alcanzaron entre 20 y 25 cm de longitud después de dos meses de crecimiento, medida considerada adecuada para la extracción de explantes. Figura 2.



Figura 2. a) Rebrote en cantero a los 45 días. b) Cormo del rebrote. c). Ápice de rebrote (AR).

4.3. Diseño experimental de la investigación

4.3.1. Medio de cultivos base

En todos los experimentos realizados se utilizó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) como medio basal (Anexo 1), y se definieron las concentraciones hormonales de auxinas y de citoquininas de acuerdo con el experimento y a la correspondiente fase de estudio.

Una vez preparados los medios de cultivo, el pH se ajustó a 5.8 utilizando NaOH 1N o HCl 1N. Como agente gelificante se empleó Phytigel (Sigma) a una concentración de 3 g L^{-1} . Para los medios de consistencia semisólida, se dispensaron 10 ml por tubo de ensayo ($25 \times 150 \text{ mm}$) y 20 ml por frasco de 250 mL de capacidad, mientras que en los medios líquidos se colocaron 10 ml por unidad experimental. Estos volúmenes fueron utilizados tanto en los ensayos de multiplicación como en los de densidad de tejidos por frasco. Finalmente, los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atmósfera de presión.

4.3.2. Tratamientos establecidos en cada fase

a. Establecimiento

Se analizó el efecto de distintas concentraciones de Ácido Indol Acético (AIA) y 6-Bencil amino purina (6-BAP) sobre la brotación de ápices de cormo madre (ACM) y ápices de rebrotes en cantero (AR) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Combinaciones de AIA y 6-BAP ensayadas en la fase de establecimiento

Tratamientos	Reguladores de crecimiento	
	AIA* (mg L ⁻¹)	6-BAP** (mg L ⁻¹)
T ₁	0.0	0
T ₂	0.5	0
T ₃	1.0	0
T ₄	0.0	1
T ₅	0.5	1
T ₆	1.0	1
T ₇	0.0	2
T ₈	0.5	2
T ₉	1.0	2

*AIA: Ácido Indol Acético; **6-BAP: 6- Bencil aminopurina

b. Multiplicación

En este experimento se estudió el efecto de la combinación de distintas concentraciones de AIA y 6-BAP (Cuadro 2) sobre la tasa de multiplicación con fuente de ACM y AR en tres subcultivos sucesivos.

Cuadro 2. Combinaciones de AIA y de 6-BAP ensayadas en la fase de multiplicación

Tratamiento	Reguladores de crecimiento	
	AIA (mg L ⁻¹)	6-BAP (mg L ⁻¹)
T ₁	0.00	0
T ₂	0.25	0
T ₃	0.50	0
T ₄	0.00	1
T ₅	0.25	1
T ₆	0.50	1
T ₇	0.00	2
T ₈	0.25	2
T ₉	0.50	2
T ₁₀	0.00	3
T ₁₁	0.25	3
T ₁₂	0.50	3

*AIA: Ácido Indol Acético; **6-BAP: 6-Bencil aminopurina

4.2.3 Tamaño de la muestra

a. Fase de Establecimiento

Para el experimento se establecieron 20 explantes por cada uno de los nueve tratamientos en cada tipo de tejido (ACM y AR). Obteniendo 180 tejidos por tipo de tejido con un total de 360 tejidos.

b. Fase de Multiplicación

En la fase de multiplicación se desarrollaron dos experimentos de manera independiente.

➤ Experimento 1

- Se evaluó el efecto de la combinación de distintas concentraciones de BAP y AIA sobre la tasa de multiplicación durante tres subcultivos sucesivos, utilizando dos fuentes de material vegetal: ACM y AR.
- Cada tratamiento estuvo conformado por 20 yemas axilares de ACM y 20 de AR, distribuidas en cinco frascos de 250 mL de capacidad, con cuatro brotes axilares por frasco.

➤ Experimento 2

- A las cuatro semanas se evaluó la mejor densidad de siembra en función de la respuesta de brotación axilar en frascos de 250 mL de capacidad. En el estudio se emplearon cinco frascos por tratamiento, correspondientes a densidades de siembra de 4, 5 y 6 brotes axilares, utilizando ambos tipos de fuente de tejido.

4.4. Manejo del ensayo

A cada cormo se le eliminaron hojas, brotes axilares y raíces, reduciendo los explantes apicales a un tamaño aproximado de 1 cm, en el caso de la fuente de material vegetativo de rebrotes la yema apical resultó más sencilla su extracción. Después de la extracción de ACM y AR se lavaron con agua y detergente. Posteriormente se diseccionaron con la ayuda de un cuchillo hasta reducir las a un tamaño de aproximadamente 2 cm de largo y 1 cm de ancho (Figura 3).



Figura 3. Fase de establecimiento, realizando la disección de los tejidos con la ayuda de bisturí hasta reducir las a un tamaño aproximado de 2 cm de largo y 1 cm de ancho.

Se practicó un segundo lavado con agua y detergente durante 30 minutos, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5 % durante 10 minutos y para eliminar los residuos de cloro se efectúan tres enjuagues continuos con agua destilada estéril. En la cámara de flujo laminar se realizó la segunda desinfección con cloro al 2 % durante 5 minutos, los residuos se eliminaron con el mismo procedimiento de la primera desinfección. En los tipos de material vegetativo ACM y AR, los ápices se extrajeron con la ayuda de escalpelos y pinzas, hasta lograr en la última disección un tamaño de aproximadamente 0.5 cm. alto y 0.5 cm. de ancho. Figura 2c.

Los experimentos de multiplicación se realizaron con plantas obtenidas en la fase de establecimiento, a partir de tejidos de ápices de cormo madre (ACM) y de ápices de rebrotes en cantero (AR). Se efectuaron tres subcultivos sucesivos, cada uno evaluado a las cuatro semanas.

Para los experimentos sobre el número de tejidos por frasco, se emplearon plantas obtenidas en el tercer subcultivo, utilizando ambas fuentes iniciales de material vegetativo.

4.5. Variables evaluadas a los dos tipos de tejidos

4.6. Fase de establecimiento

En el primer experimento, los tratamientos se organizaron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), cada uno conformado por 20 explantes distribuidos en cinco frascos de 250 mL, con 4 brotes axilares por frasco, obtenidos de las fuentes de material ACM y AR. La evaluación de los resultados se realizó de forma independiente para cada una de las fuentes de material, ACM y AR.

A los 30, 45 y 60 días se evaluaron las variables:

- ✓ Porcentaje de color verde
- ✓ Porcentaje de color marrón
- ✓ Formación de plantas

Además, a los 60 días se evaluaron las variables:

- ✓ Longitud de las plantas (cm)
- ✓ Número de hojas

4.7. Fase de multiplicación

Los ensayos se organizaron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cada tratamiento conformado por 20 frascos con brotes axilares formados con ACM y AR, en los cuales se colocaron cuatro tejidos por frasco. Para el análisis estadístico primero se realizó una prueba de varianza (ANOVA) y para determinar las diferencias estadísticas se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$. A las 4 semanas se evaluaron los variables:

- ✓ Número de brotes producido por explante
- ✓ Longitud de planta y de brotes
- ✓ Número de hojas y de brotes
- ✓ Número de raíces por planta

4.8. Análisis de datos

Para el procesamiento estadístico, inicialmente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente, la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) para determinar diferencias

significativas entre los tratamientos. Para el análisis de los datos de los diferentes experimentos se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2020.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Fase de establecimiento con ACM

A los 30 días de cultivo, únicamente en el tratamiento T_3 , suplementado con 1 mg L^{-1} de AIA, se observó la formación de plantas, aunque con un porcentaje reducido (5 %). En contraste, los tratamientos T_1 y T_2 , con 0 y 0.5 mg L^{-1} de AIA, respectivamente, registraron un 100 % de tejidos con coloración marrón, señal de oxidación en los explantes. Por otro lado, en los tratamientos T_4 , T_5 , T_6 , T_7 , T_8 y T_9 , que combinaron 0, 0.50 y 1 mg L^{-1} de AIA con 1 o 2 mg L^{-1} de 6-BAP, los tejidos conservaron una coloración verde intensa, lo que indica una mejor respuesta metabólica y sugiere que la diferenciación de los tejidos requiere niveles combinados de AIA y 6-BAP (Figura 4).

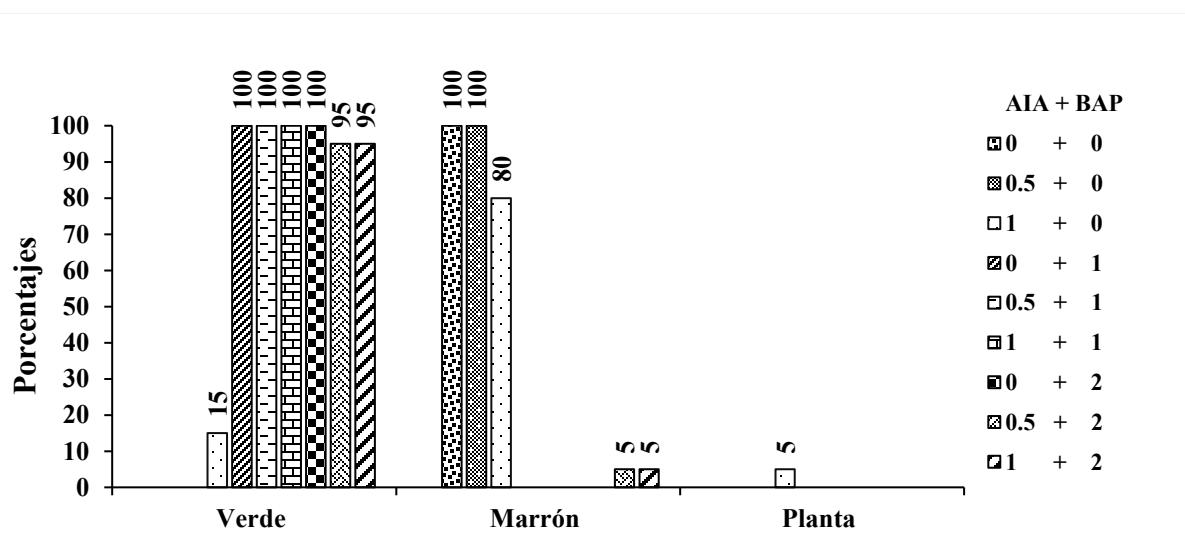


Figura 4. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila” a los 30 días de establecidos en 9 variantes de medios de cultivo.

A los 45 días de la fase de establecimiento, se mantuvo la tendencia observada a los 30 días para las variables cualitativas color verde y color marrón. En esta fase, los mayores porcentajes de formación de plantas (20 %) se registraron en los tratamientos T_3 y T_7 , que contenían únicamente 1 mg L^{-1} de AIA o 2 mg L^{-1} de 6-BAP, respectivamente. Figura 5.

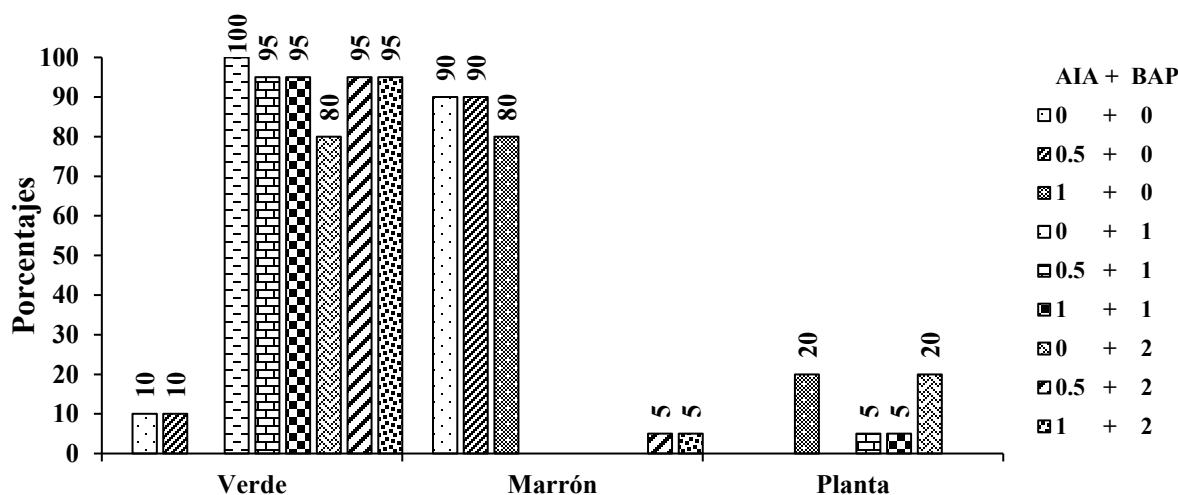


Figura 5. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila” a los 45 días de establecidos en 9 variantes de medio cultivo.

A los 60 días, se evidenció una deficiencia endógena de citoquininas en los tratamientos que no contenían 6-BAP. En T₁ (0 mg L⁻¹ de AIA), T₂ (0.5 mg L⁻¹ de AIA) y T₃ (1 mg L⁻¹ de AIA) se registraron altos porcentajes de explantes con coloración marrón (85, 85 y 75 %, respectivamente), acompañados de bajos porcentajes de tejidos con color verde (10, 5 y 0 %) y una formación de plantas limitada (5, 10 y 25 %, en el mismo orden). En contraste, los tratamientos T₇ (0 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP) y T₉ (1 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP) mostraron los mayores porcentajes de formación de plantas, alcanzando 95 % y 100 %, respectivamente (Figura 6), lo que confirma la necesidad de 6-BAP exógeno para revertir la oxidación y promover la diferenciación.

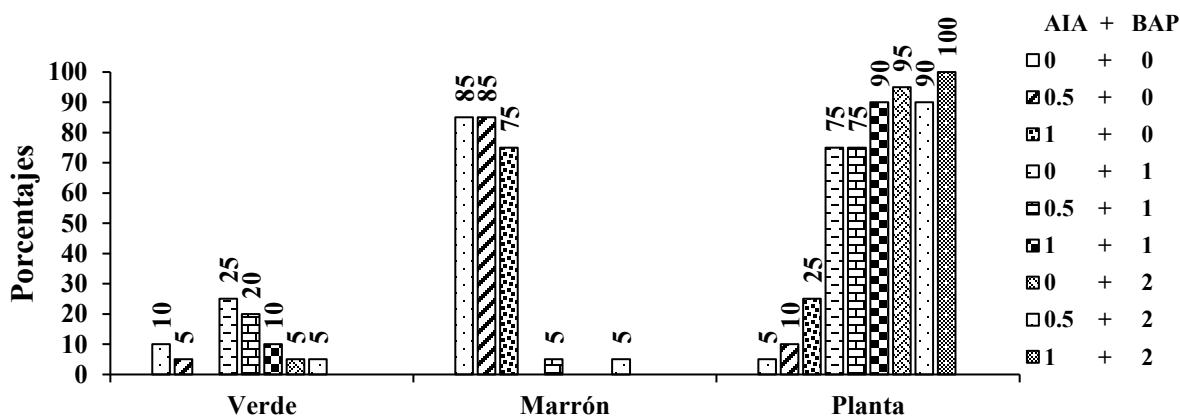


Figura 6. Porcentajes de coloración verde, coloración marrón y formación de plantas en tejidos ACM de la variedad “Lila”, a los 60 días de establecimiento en nueve variantes de medio de cultivo.

Se observó que el tratamiento T₇, suplementado con 2 mg L⁻¹ de 6-BAP, generó la mayor longitud de tallo (1.86 cm) y el mayor número de hojas (4.50 por explante). Con base en el análisis estadístico de las variables evaluadas, este tratamiento, correspondiente a la combinación de 0 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP, se identificó como el más eficiente para el establecimiento de los ACM (Cuadro 3). La evolución del crecimiento puede apreciarse en la Figura 7.

Cuadro 3. Longitud de plantas y número de hojas a los 60 días de establecidos de ACM de la variedad “Lila”

	Tratamientos (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas
	AIA	6-BAP		
T ₁	0.0	0.0	0.715 bc	0.400 d
T ₂	0.5	0.0	0.640 c	0.300 d
T ₃	1.0	0.0	0.825 bc	0.650 d
T ₄	0.0	1.0	0.760 bc	2.500 c
T ₅	0.5	1.0	0.700 bc	3.500 abc
T ₆	1.0	1.0	0.870 bc	3.050 bc
T ₇	0.0	2.0	1.865 a	4.500 a
T ₈	0.5	2.0	1.145 b	2.500 c
T ₉	1.0	2.0	1.035 bc	3.750 ab

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

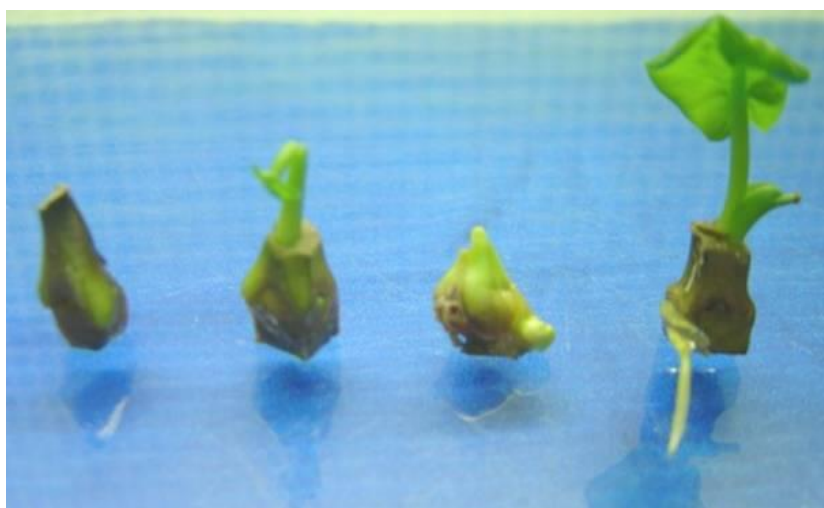


Figura 7. Diferenciación de ACM de la variedad Lila: de izquierda a derecha: (a) ápice color marrón (b) ápice color verde (c) color verde con brote axilar (d) planta formada.

5.2 Fase de establecimiento con AR

A los 30 días de establecimiento de los ápices de rebrotes (AR), la respuesta de los tejidos a distintas combinaciones de AIA y 6-BAP mostró variaciones en el porcentaje de tejidos colore verdes, marrones y plantas formadas. En T₁, sin reguladores del crecimiento, predominó el tejido color marrón (80 %) y solo el 10 % de los tejidos se desarrolló como planta. La incorporación de AIA en T₂ y T₃ incrementó los tejidos color verde a 75 % y 70 %, reduciendo el color marrón, pero con formación limitada de plantas (5 %). El tratamiento T₄ con 6-BAP solo mantuvo 65 % el color verde y 5 % de plantas formadas. Combinaciones de AIA y 6-BAP en niveles intermedios o altos (T₅, T₆, T₇, T₈ y T₉) aumentaron notablemente el tejido color verde (80-95 %), con mínimos porcentajes de color marrón (0-10 %), aunque la formación de plantas permaneció baja (0-5 %), salvo T₅ que alcanzó 35 %. Estos resultados indican que la regulación hormonal influye principalmente en la conservación del tejido color verde, mientras que la diferenciación completa hacia planta requiere condiciones adicionales, como tipo de explante o tiempo de exposición (Figura 8).

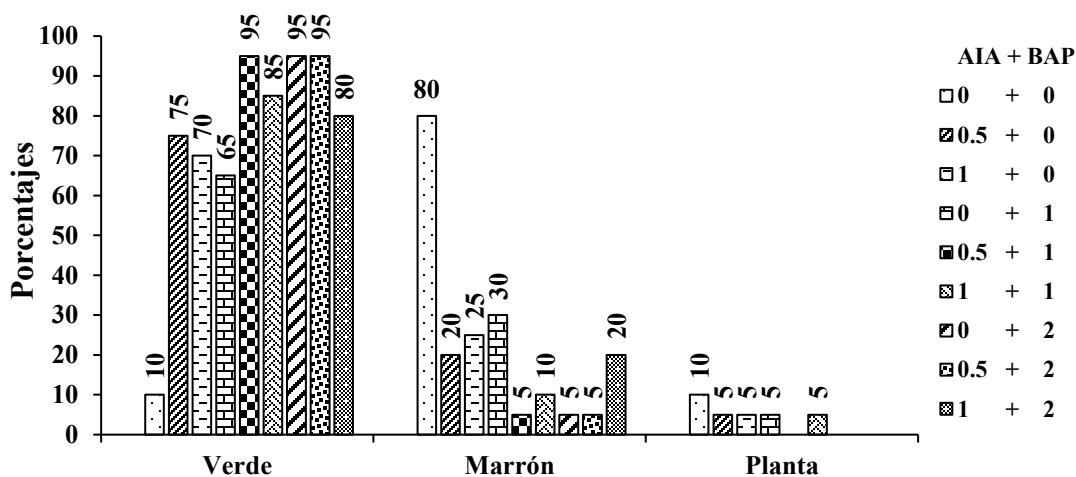


Figura 8. Porcentaje de color verde, color marrón y planta formada de AR a los 30 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.

A los 45 días de establecidos los AR, los tratamientos con distintas combinaciones de AIA y 6-BAP mostraron efectos diferenciados sobre tejidos color verde, marrón y formación de plantas. En T₁, sin hormonas, predominó el tejido color marrón (55 %) y solo el 25 % de los tejidos se desarrolló como planta. La incorporación de AIA en T₂ y T₃ aumentó el color verde a 45 %, reduciendo el color marrón y logrando una formación de plantas de 10-25 %. El tratamiento con

6-BAP solo (T₄) mantuvo 40 % de color verde y 25 % de plantas formadas. Combinaciones de AIA y 6-BAP en niveles intermedios o altos (T₅-T₉) incrementaron notablemente el tejido color verde (65-95 %) y redujeron el color marrón (0-10 %), aunque la formación de plantas permaneció baja (0-10 %), salvo en el T₅ que alcanzó 35 %. Estos resultados indican que la preservación del tejido color verde depende principalmente de 6-BAP, mientras que la diferenciación completa hacia planta requiere un balance específico entre AIA y 6-BAP, siendo óptima en niveles intermedios como en T₅. En la figura 9 se presentan los resultados.

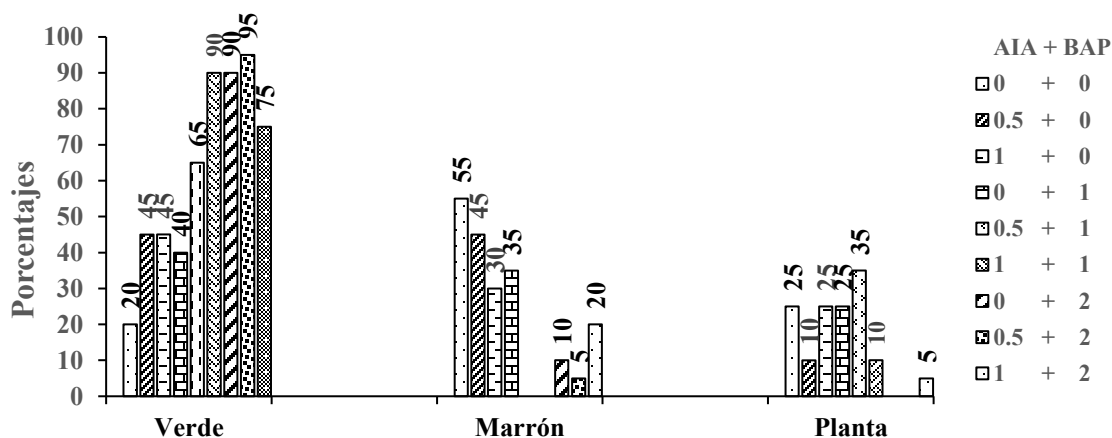


Figura 9. Porcentaje de color verde, color marrón y planta formada de AR a los 45 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.

A los 60 días de establecidos los tejidos, los tratamientos con distintas combinaciones de AIA y 6-BAP mostraron efectos diferenciados sobre la longitud de planta y el número de hojas. En cuanto a la longitud de planta, la mayoría de los tratamientos (T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇ y T₉) no presentaron diferencias estadísticas significativas, con valores que oscilaron entre 0.250 y 0.475 cm, mientras que T₈ mostró la menor longitud (0.450 cm) con diferencia significativa respecto a algunos tratamientos.

Respecto al número de hojas, T₅ (0.5 mg L⁻¹ AIA + 1 mg L⁻¹ 6-BAP) generó la mayor emisión foliar (1.850 hojas), seguida de T₄ (1.700 hojas), diferenciándose estadísticamente del resto. Los tratamientos T₁, T₃, T₆, T₇, T₈ y T₉ mostraron valores intermedios (0.600-1.100 hojas), mientras que en el T₂ se presentó la menor emisión foliar (0.700 hojas). Estos resultados indican que niveles intermedios de AIA combinados con 6-BAP favorecen especialmente la emisión de

hojas, mientras que las demás combinaciones tienen un efecto limitado sobre el desarrollo foliar, aunque no afectan significativamente la longitud de planta en esta fase. Cuadro 4.

Cuadro 4. Longitud de planta y número de hojas por planta a los 60 días de establecidos AR

	Tratamientos		Longitud de planta (cm)	Número de hojas
	AIA	6-BAP		
	(mg L ⁻¹)			
T ₁	0.0	0.0	0.425 a	0.900 b
T ₂	0.5	0.0	0.250 a	0.700 bc
T ₃	1.0	0.0	0.375 a	0.600 bcd
T ₄	0.0	1.0	0.350 a	1.700 ab
T ₅	0.5	1.0	0.475 a	1.850 a
T ₆	1.0	1.0	0.300 a	1.100 b
T ₇	0.0	2.0	0.390 a	0.750 bc
T ₈	0.5	2.0	0.450 b	0.950 b
T ₉	1.0	2.0	0.400 a	0.850 b

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

De acuerdo con los resultados presentados en los dos tipos de tejidos, entre ellos existen diferencias en la cantidad de auxinas y citoquininas endógenas. En los AR fue evidente que las concentraciones de AIA y 6-BAP empleadas para el estudio no conjugaron el balance adecuado para activar los procesos de división y diferenciación celular.

McDonald (1997) encontró que algunas de las funciones de la auxina son la elongación celular, la estimulación del crecimiento y desarrollo del fruto, así como la regulación de la dominancia apical.

En los medios antes descritos se manifestó el efecto reductor de la senescencia del 6-BAP al disminuirse la expresión de color marrón de los ápices y prevaleciendo el color verde en la mayoría de ellos. Cuando no se adicionó 6-BAP se incrementó el color marrón de los ápices. Los resultados indican que en los ápices de yemas axilares las cantidades de 6-BAP no parecieron tener efecto en la formación de plantas, (Figura 10).

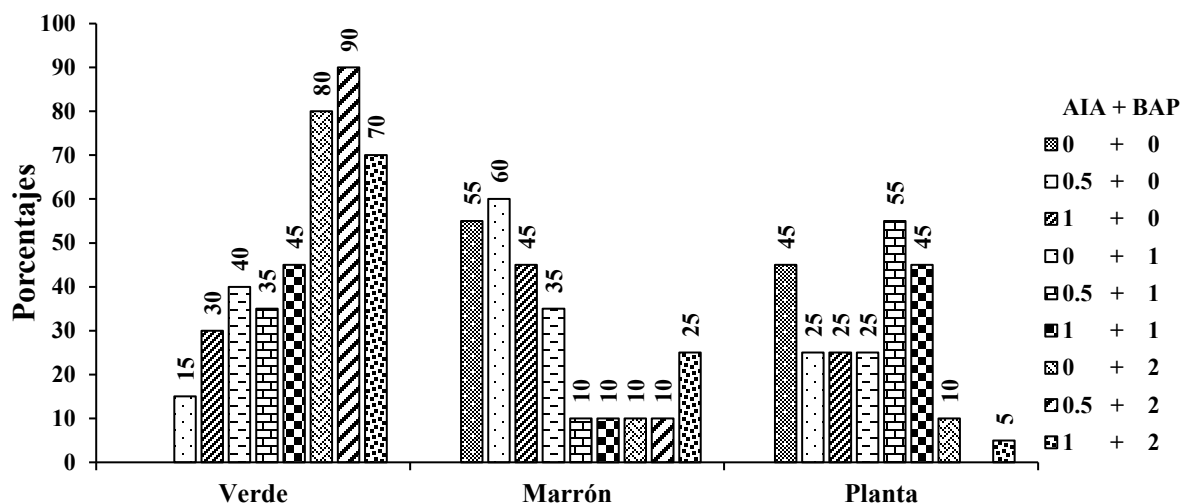


Figura 10. Porcentajes de color verde, color marrón y planta formada en AR a los 60 días de establecidos en nueve variantes de medios de cultivo.

En el establecimiento *in vitro* de *Xanthosoma* spp., particularmente en especies como *Xanthosoma sagittifolium* y *Xanthosoma violaceum*, se reporta el uso de ápices meristemáticos y yemas axilares como fuentes convencionales de explantes para la fase de establecimiento, tal como lo describen Sama et al., (2012) en su protocolo de desinfección y siembra inicial.

En el cultivo de quequisque, López et al., (1995) reportan diferencias en crecimiento y desarrollo entre plantas propagadas de distintas partes del cormo primario, comparadas con plantas reproducidas a partir de la planta principal o planta madre. Estos mismos autores destacan en la reproducción convencional que plantas procedentes de la yema apical, son más grandes que las procedentes de las restantes secciones del cormo, debido a que ahíjan poco.

En la micropropagación se considera que el estado fisiológico de la planta que dona el explante es de gran influencia en la respuesta de los tejidos, existiendo diferencias en los requerimientos nutricionales y hormonales, cuando los tejidos provienen de plantas con diferentes edades fisiológicas (Jiménez, 1998).

Estudios como los de Bansal et al., (2023) señalan que la respuesta al establecimiento depende estrechamente del estado fisiológico del tejido y de los niveles endógenos de reguladores de crecimiento, lo cual puede explicar las diferencias observadas entre los explantes ACM y AR en términos de oxidación o capacidad de formación de tejido verde. En este contexto, la respuesta positiva observada en los explantes suplementados con 2 mg L⁻¹ de 6-BAP, similar a lo reportado por Sama et al., (2012), indica que la citoquinina exógena favorece la activación

meristemática, especialmente en tejidos jóvenes como los AR. Por tanto, los resultados obtenidos no solo se alinean con los rangos hormonales propuestos en protocolos previos para *Xanthosoma* spp., sino que además sugieren que la selección de la fuente de explante es un factor crítico y poco explorado que influye directamente en el éxito de la fase de establecimiento.

5.3 Fase de multiplicación

5.3.1 Primer subcultivo con tejidos ACM

En la variable longitud de planta, la variedad lila tuvo un comportamiento estadístico similar; aunque en el tratamiento suplementado con 2 mg L⁻¹ de 6-BAP se registró mayor media (1.83 cm). Las medias de número de hojas se comportaron estadísticamente igual en los diferentes tratamientos.

El número de brotes axilares fue superior estadísticamente en los tratamientos que se les agregó 0.50 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP (1.40) y 0.25 mg L⁻¹ de AIA + 3 mg L⁻¹ de 6-BAP (1.90). Las menores medias de brotación se registraron en los tratamientos que únicamente se les adicionaron concentraciones con 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA (0.15 y 0.25 respectivamente).

Similar comportamiento estadístico se observó en la variable longitud de brotes en los medios sin reguladores de crecimiento; 0.25 mg L⁻¹ de AIA y 1 mg L⁻¹ 6-BAP y en los medios que contenían concentraciones de 2 y 3 mg L⁻¹ de 6-BAP combinado con o sin adición de AIA. Las menores medias de número de hojas por brote se presentaron en los medios suplementados con 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA. Cuadro 5.

Cuadro 5. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el primer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de corno madre ACM de la variedad “Lila”

Tratamientos		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas por brote
AIA	6-BAP					
(mg L ⁻¹)						
0.00	0	1.48 a	2.70 a	0.45 efd	0.42 bac	0.75 abc
0.25	0	1.10 a	2.30 a	0.15 f	0.12 c	0.25 bc
0.50	0	1.72 a	2.35 a	0.25 ef	0.12 c	0.15 c
0.00	1	1.34 a	2.65 a	0.45 efd	0.31 bc	0.40 abc
0.25	1	1.65 a	2.55 a	0.80 ecd	0.48 abc	0.65 abc
0.50	1	1.77 a	2.60 a	0.45 efd	0.32 bc	0.45abc
0.00	2	1.83 a	2.80 a	1.25 bc	0.62 ab	0.95 ab
0.25	2	1.16 a	2.75 a	0.85 bcd	0.49 abc	0.90 ab
0.50	2	1.33 a	2.80 a	1.40 ab	0.71 ab	0.80 abc
0.00	3	1.50 a	2.65 a	0.70 efcd	0.45 abc	0.70 abc
0.25	3	1.70 a	3.05 a	1.90 a	0.85 a	1.00 a
0.50	3	1.75 a	3.00 a	1.18 bc	0.77 a	1.00 a

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

En el tratamiento T₆ (0.50 mg L⁻¹ de AIA + 1 mg L⁻¹ de 6-BAP), el 70 % de las plantas formadas emitió cuatro o más raíces, mientras que el 25 % produjo entre 1 y 3 raíces y solo el 5 % no generó raíces. En los tratamientos sin reguladores y en aquellos donde se adicionaron 0.50 mg L⁻¹ de AIA, 1 mg L⁻¹ de 6-BAP, 0.25 mg L⁻¹ de AIA + 1 mg L⁻¹ de 6-BAP, 2 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.25 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP, la proporción de plantas con cuatro o más raíces se mantuvo entre 50 y 55 %. Por otro lado, en el tratamiento testigo sin adición de AIA ni 6-BAP, así como en los tratamientos con 0.25 mg L⁻¹ de AIA, 0.50 mg L⁻¹ de AIA + 2 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.50 mg L⁻¹ de AIA + 3 mg L⁻¹ de 6-BAP, se observó que entre 50 y 60 % de las plantas no emitieron raíces (Figuras 11 y 12).

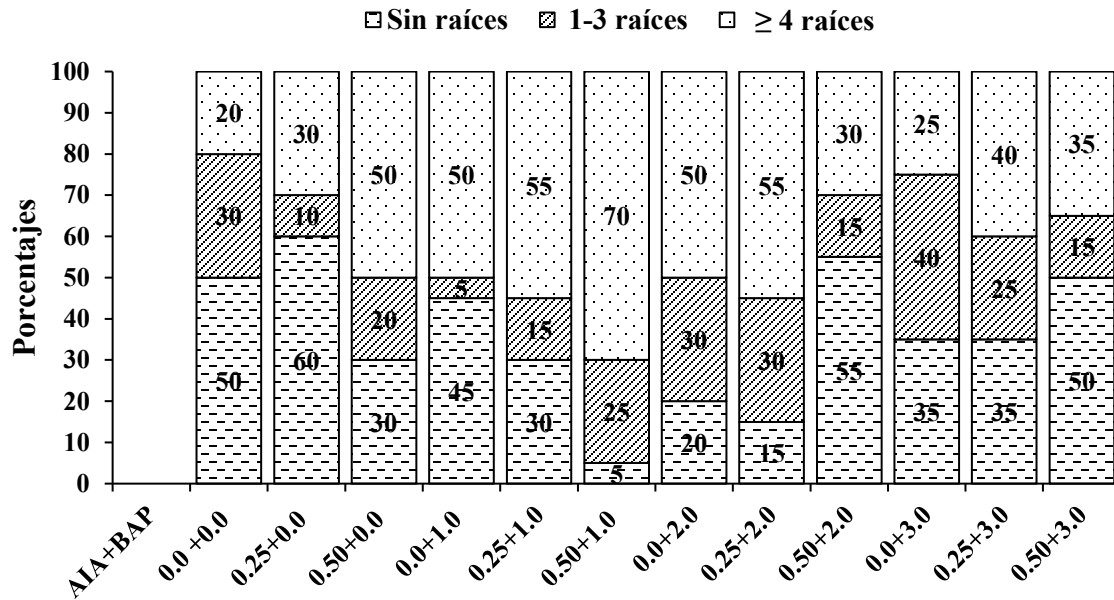


Figura 11. Plantas regeneradas a partir de tejidos ACM de la variedad “Lila” en el primer subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

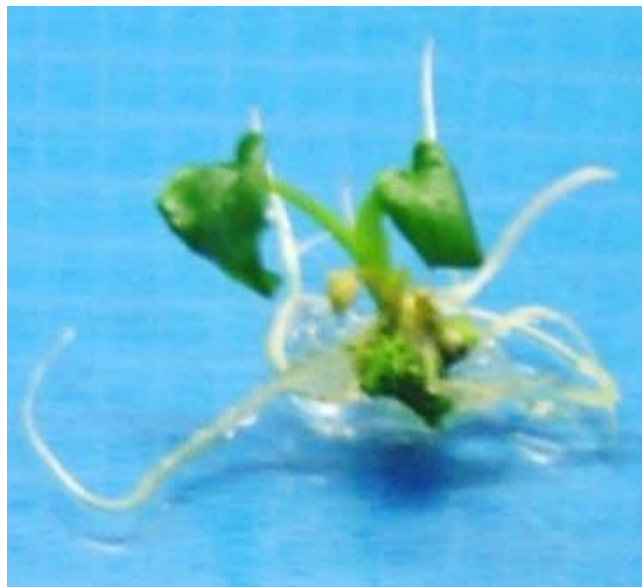


Figura 12. Plántula de la variedad “Lila” en fase de multiplicación.

Estudios previos (Gaitán y Flores, 2019) en quequisque *Xanthosoma* spp. han demostrado que la concentración de auxinas influye directamente en la formación y desarrollo de estructuras foliares. En la fase de multiplicación, medios con 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA han mostrado buena inducción de brotes, pero no necesariamente un incremento proporcional en el número

de hojas, lo cual concuerda con lo observado en este experimento. Concentraciones más altas de AIA (1.0 mg L^{-1}) se han asociado con mayor vigor vegetativo y mayor número de hojas en la etapa de enraizamiento (Flores y Gómez, 2020).

Zeledón Mairena (2006) encontró que en la propagación *in vitro* de quequisque variedad “Blanco”, los medios suplementados con 0.50 mg L^{-1} de AIA y 1 mg L^{-1} de 6-BAP, el 70 % de las plantas establecidas emitieron cuatro o más raíces. También, medios sin reguladores de crecimiento y en los que se agregaron 0.25 mg L^{-1} de AIA, 0.50 mg L^{-1} de AIA con 2 mg L^{-1} de 6-BAP y la combinación de 0.0, 0.25 y 0.50 mg L^{-1} de AIA con 3 mg L^{-1} de 6-BAP, los porcentajes de producción de raíces en número de cuatro o más raíces alcanzaron el rango entre 20 % y 40 %.

La conclusión de esta investigación concuerda con lo observado en este estudio, donde el medio que contenía 0.50 mg L^{-1} de AIA y 1 mg L^{-1} de 6-BAP promovió más emisión de raíces, donde la mayoría de las plantas establecidas desarrollando cuatro o más raíces.

5.3.2 Segundo subcultivo con tejidos ACM

En el segundo subcultivo los tratamientos sin 6-BAP y sin AIA presentaron la mayor longitud de planta (3.40 cm), sin diferencias significativas con las concentraciones de 0.25 y 0.50 mg L^{-1} de AIA sin 6-BAP, lo que indica que la adición de solo AIA, no afectó significativamente esta variable. Sin embargo, al incorporar 6-BAP, la longitud de planta disminuyó, observándose los valores más bajos (1.72-2.21 cm) en los tratamientos con 2 y 3 mg L^{-1} de 6-BAP combinados con AIA.

El mayor número de hojas se registró en el tratamiento con 0.25 mg L^{-1} de AIA y 1 mg L^{-1} de 6-BAP (3.80), mientras que los valores más bajos se observaron en las combinaciones con 2 mg L^{-1} de 6-BAP, evidenciando un efecto inhibitorio a concentraciones elevadas.

En la variable número de brotes, los mejores resultados se obtuvieron con 0.50 mg L^{-1} de AIA y 2 mg L^{-1} de 6-BAP (2.20 brotes), seguido de la combinación de 0.00 mg L^{-1} de AIA con 2 mg L^{-1} de 6-BAP (2.10 brotes), confirmando el efecto positivo del 6-BAP en esta variable. Estas mismas combinaciones también promovieron la mayor longitud de brotes (0.93-1.02 cm) y el mayor número de hojas por brote (1.50-1.95).

En general, los tratamientos con 6-BAP a 2 mg L⁻¹, especialmente en combinación con 0.50 mg L⁻¹ de AIA, mostraron el mejor desempeño en la inducción y desarrollo de brotes, mientras que los tratamientos sin citoquinina favorecieron únicamente el crecimiento en longitud de la planta principal. Cuadro 6.

Cuadro 6. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el segundo subcultivo de plantas obtenidas de ápices de corno madre (ACM) de la variedad “Lila”

Tratamientos AIA 6-BAP (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas por brote
0.00	0	3.40 a	3.50 ab	1.05 cde	0.55 abc	0.85 bc
0.25	0	3.61 a	3.35 bc	0.50 de	0.42 bc	0.85 bc
0.50	0	3.47 a	3.40 bc	0.45 e	0.32 c	0.65 c
0.00	1	2.26 bc	3.40 bc	0.90 cde	0.73 abc	1.15 abc
0.25	1	2.32 b	3.80 a	1.15 cde	0.55 abc	0.95 abc
0.50	1	1.91 cd	2.85 ef	0.85 cde	0.42 bc	0.80 bc
0.00	2	2.21 bc	2.75 f	2.10 a	0.93 a	1.50 abc
0.25	2	1.75 d	2.90 def	1.90 ab	0.97 a	1.75 ab
0.50	2	1.72 d	2.95 def	2.20 a	1.02 a	1.95 a
0.00	3	1.63 d	3.10 cde	1.90 ab	0.80 abc	1.65 abc
0.25	3	1.92 cd	3.35 bc	1.20 bcd	0.83 ab	1.50 abc
0.50	3	2.16 bc	3.15 cde	1.25 bc	0.68 abc	1.30 abc

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

En los tratamientos sin la adición de 6-BAP, el 100 % de las plantas desarrollaron cuatro o más raíces, evidenciando un efecto favorable de esta condición sobre la rizogénesis. Excepto en el tratamiento con 0.25 mg L⁻¹ de AIA y 3 mg L⁻¹ de 6-BAP, en el cual no se logró la formación de raíces en la totalidad de los explantes, el resto de las formulaciones evaluadas promovió la emisión de al menos una raíz en el 100 % de las plantas (Figura 13).

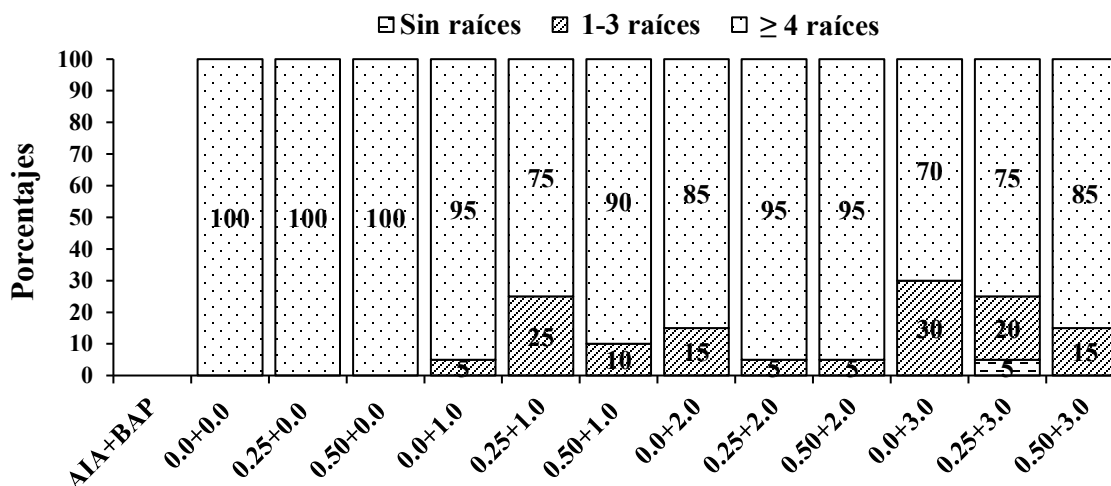


Figura 13. Plantas regeneradas a partir de tejidos ACM de la variedad “Lila” en el segundo subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

5.3.3 Tercer subcultivo con tejidos ACM

La mayor longitud de planta se observó en los tratamientos sin adición de reguladores de crecimiento (0.00 mg L⁻¹ de AIA y 6-BAP), alcanzando 3.63 cm, seguido por el tratamiento con 0.25 mg L⁻¹ de AIA y sin 6-BAP (3.42 cm), lo que indica que la ausencia o baja concentración de reguladores favoreció el alargamiento del tallo. En cuanto al número de hojas, los tratamientos sin 6-BAP también presentaron valores superiores, con medias entre 3.10 y 3.25 hojas por planta, mostrando un crecimiento vegetativo estable. Sin embargo, el número y longitud de brotes se incrementaron notablemente con la presencia de 6-BAP, especialmente en combinación con AIA. El tratamiento con 0.25 mg L⁻¹ de AIA y 2 mg L⁻¹ de 6-BAP registró los mayores valores en número (1.45) y longitud de brotes (0.60 cm), así como un mayor número de hojas por brote (1.75), evidenciando el efecto positivo de la interacción entre ambos reguladores sobre la brotación.

En general, los resultados muestran que la adición de 6-BAP, en especial a concentraciones de 2 mg L⁻¹ combinadas con AIA entre 0.25 y 0.50 mg L⁻¹, promovió una mayor formación y desarrollo de brotes, mientras que las plantas cultivadas sin reguladores presentaron mayor longitud de planta, pero menor brotación. Omokolo et al., (1995), reportan un promedio de 10.5

brote que explante en un medio MS suplementado con 0.175 mg L⁻¹ de AIA y 0.25 mg L⁻¹ de 6-BAP. Cuadro 7.

Cuadro 7. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el tercer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de cormo madre (ACM) de la variedad “Lila”

Tratamientos (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas por brote
AIA	6-BAP					
0.00	0	3.63 a	3.20 a	0.10 cd	0.05 d	0.20 bc
0.25	0	3.42 a	3.10 ab	0.10 cd	0.08 cd	0.20 bc
0.50	0	2.37 b	3.25 a	0.05 d	0.025 d	0.05 c
0.00	1	2.12 b	2.75 bc	0.45 bcd	0.25 abcd	0.85 abc
0.25	1	1.82 bc	2.40 c	0.15 cd	0.12 bcd	0.25 bc
0.50	1	2.07 b	3.05 ab	0.75 abcd	0.66 a	1.40 a
0.00	2	2.12 b	3.05 ab	0.90 abcd	0.55 ab	1.35 a
0.25	2	2.00 b	3.10 ab	1.45 a	0.60 a	1.75 a
0.50	2	1.75 bc	3.00 ab	0.95 abc	0.50 ab	1.15 ab
0.00	3	2.10 b	3.15 ab	0.75 abcd	0.45 abcd	1.00 abc
0.25	3	1.77 bc	3.15 ab	0.90 abc	0.54 ab	1.40 a
0.50	3	2.05 b	3.30 a	1.15 ab	0.50 abc	1.40 a

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$

No se observó formación de raíces en los tratamientos sin 6-BAP ni en el que contenía 0.50 mg L⁻¹ de AIA con 1 mg L⁻¹ de 6-BAP, indicando ausencia total de respuesta rizogénica. En los tratamientos con 0.50 mg L⁻¹ de AIA y 2 mg L⁻¹ de 6-BAP, así como en los que combinaron 3 mg L⁻¹ de 6-BAP con 0.0, 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA, entre 30 % y 40 % de las plantas desarrollaron cuatro o más raíces, lo que representó la respuesta más baja de emisión radicular entre los tratamientos que sí indujeron raíces. Figura 14.

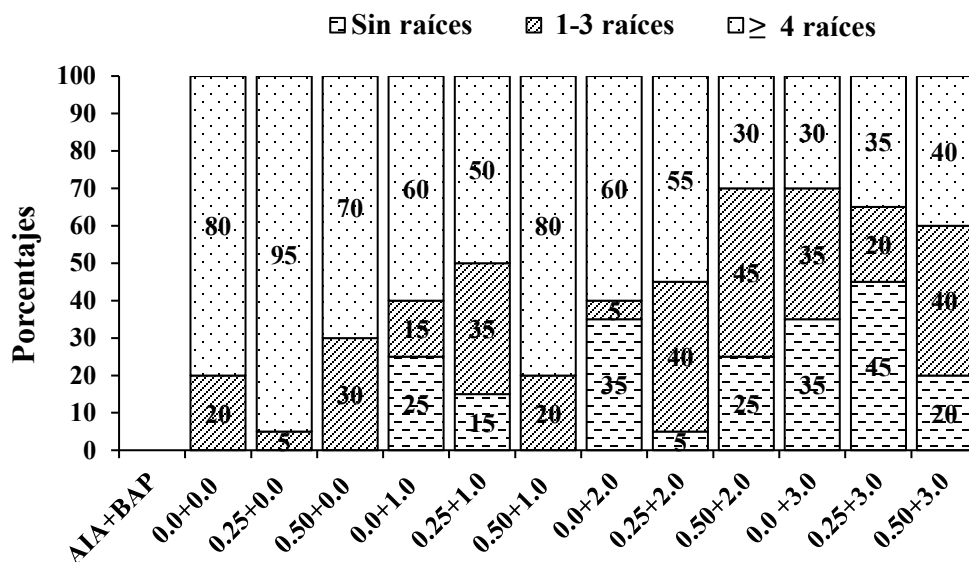


Figura 14. Plantas regeneradas a partir de tejidos ACM de la variedad “Lila” en el tercer subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

5.3.4 Primer subcultivo con tejidos de AR

En el primer subcultivo, los tratamientos mostraron respuestas diferenciadas según la combinación de AIA y 6-BAP. En longitud de planta, los tratamientos sin 6-BAP y con 0.50 mg L⁻¹ de AIA alcanzaron los valores más altos (2.17 cm), mientras que las menores longitudes se registraron en los tratamientos con 2 y 3 mg L⁻¹ de 6-BAP combinados con 0.50 mg L⁻¹ de AIA, donde las plantas no superaron los 0.85 cm.

Respecto al número de hojas, los valores se mantuvieron relativamente uniformes entre tratamientos; sin embargo, el tratamiento con 1 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.50 mg L⁻¹ de AIA registró el valor más alto (3.15 hojas por planta), mientras que el tratamiento con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.25 mg L⁻¹ de AIA presentó la cifra más baja (2.35 hojas).

En la variable número de brotes, el tratamiento con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.25 mg L⁻¹ de AIA destacó con el mayor número de brotes (1.20 brotes por explante), evidenciando un efecto estimulante de esta combinación sobre la brotación. En contraste, los tratamientos sin 6-BAP y con 0.25 o 0.50 mg L⁻¹ de AIA mostraron los valores más bajos (0.25 a 0.40 brotes por explante).

En cuanto a la longitud de brotes, los mayores valores se observaron en los tratamientos con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP (hasta 0.37 cm), mientras que los valores más bajos se registraron en las combinaciones sin 6-BAP, donde los brotes no superaron los 0.12 cm. Finalmente, el número de hojas por brote fue superior en los tratamientos con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP, alcanzando hasta 0.75 hojas por brote, lo que indica una mayor diferenciación foliar bajo este nivel de citoquinina. Cuadro 8.

Cuadro 8. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el primer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”

Tratamientos (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas por brote
AIA	6-BAP					
0.00	0	1.95 ab	3.10 ab	0.55 abc	0.20 ab	0.40 ab
0.25	0	1.60 bc	2.90 abc	0.40 c	0.12 b	0.25 b
0.50	0	2.17 a	2.85 abc	0.25 c	0.10 b	0.20 b
0.00	1	1.22 cdef	2.85 abc	0.45 bc	0.17 ab	0.35 ab
0.25	1	1.27 cde	2.55 bc	0.65 abc	0.25 ab	0.50 ab
0.50	1	1.48 cd	3.15 a	0.55 abc	0.22 ab	0.45 ab
0.00	2	1.17 cdef	2.65 abc	0.60 abc	0.20 ab	0.40 ab
0.25	2	0.95 ef	2.80 abc	0.60 abc	0.27 ab	0.55 ab
0.50	2	0.82 f	2.80 abc	0.70 abc	0.30 ab	0.60 ab
0.00	3	1.51 bc	2.85 abc	1.10 ab	0.30 ab	0.60 ab
0.25	3	1.04 def	2.35 c	1.20 a	0.37 a	0.75 a
0.50	3	0.85 ef	2.60 abc	0.80 abc	0.25 ab	0.50 ab

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

Las plantas en el tratamiento con 0.50 mg L⁻¹ de AIA mostraron la mayor respuesta en enraizamiento, con un 60% de los explantes emitiendo de 1 a 3 raíces y un 15% logrando desarrollar cuatro o más raíces. En contraste, bajo el tratamiento con 0.50 mg L⁻¹ de AIA combinado con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP, el 95% de las plantas presentó inhibición en la formación de raíces. En este subcultivo, excepto el tratamiento con 0.50 mg L⁻¹ de AIA, que favoreció la emisión de raíces, los demás tratamientos mostraron niveles de inhibición radicular entre el 55 % y el 95 % de los explantes, evidenciando un efecto negativo de las combinaciones con 6-BAP sobre la rizogénesis (Figura 15).

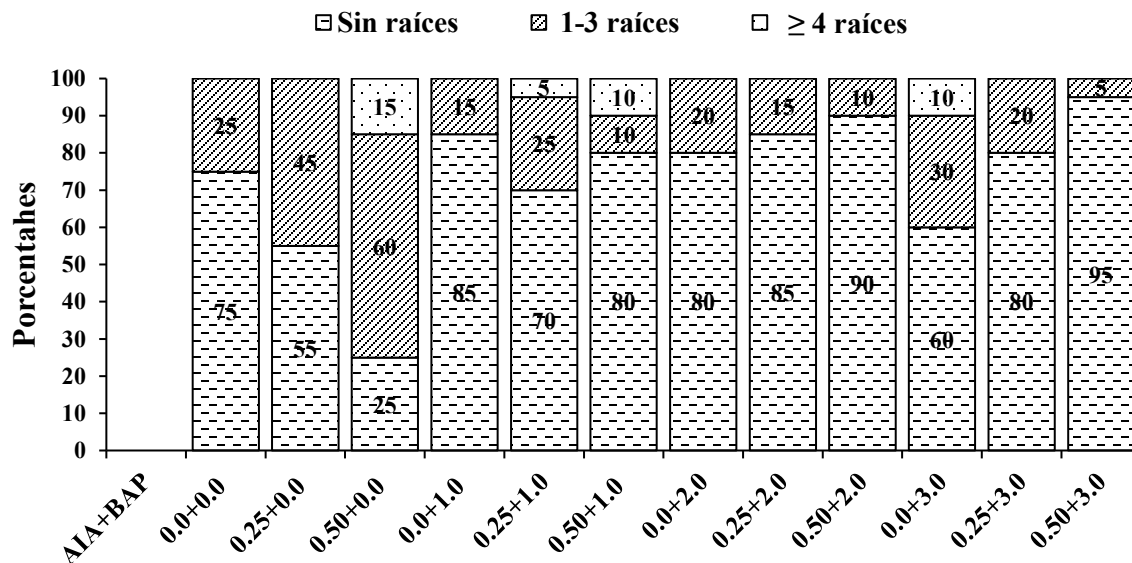


Figura 15. Plantas regeneradas a partir de tejidos AR de la variedad “Lila” en el primer subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

5.3.5 Segundo subcultivo con tejidos de AR

En el segundo subcultivo, los tratamientos T_2 y T_3 (0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA sin 6-BAP) registraron las mayores longitudes de planta (2.91 y 2.97 cm, respectivamente), destacándose sobre el resto. En contraste, los tratamientos que incluyeron 6-BAP a partir de 1 mg L⁻¹, con o sin AIA, redujeron significativamente el desarrollo vegetativo, con longitudes inferiores a 1.50 cm.

El número de hojas por planta no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, manteniéndose en un rango estrecho de 3.15 a 3.45 hojas por planta. Aunque visualmente se observó una ligera tendencia al incremento en los tratamientos que incluyeron 6-BAP entre 1 y 3 mg L⁻¹, este efecto no fue estadísticamente relevante, indicando que la variable número de hojas se mantuvo estable independientemente de la combinación de AIA y 6-BAP aplicada.

En cuanto al número de brotes, el tratamiento T_{10} , con una media de 2.74 brotes por planta, presentó un comportamiento estadísticamente similar a los tratamientos T_9 (2.63 brotes), T_{11} (2.65 brotes) y T_{12} (2.70 brotes). En contraste, los tratamientos sin 6-BAP (T_1 , T_2 y T_3)

registraron las medias más bajas, aunque sin diferencias estadísticas significativas respecto a los tratamientos que mostraron valores intermedios.

En la longitud de brotes, el tratamiento T₁₀ (0.00 mg L⁻¹ AIA + 3 mg L⁻¹ 6-BAP) presentó la mayor media con 0.67 cm, superando significativamente a los tratamientos sin 6-BAP (T₁, T₂ y T₃), cuyas medias no superaron 0.21 cm. Los demás tratamientos con 6-BAP, independientemente del nivel de AIA, mostraron medias intermedias sin diferencias estadísticas entre ellas.

En cuanto al número de hojas por brote, los tratamientos sin 6-BAP (T₁ a T₃) mostraron medias significativamente iguales a los tratamientos T₄, T₅, T₆, T₈ y T₁₂, indicando que la presencia de AIA por sí sola no incrementa de manera significativa el desarrollo foliar. Por otro lado, los tratamientos con mayores niveles de 6-BAP combinados con AIA (T₇, T₉, T₁₀ y T₁₁) presentaron medias superiores, favoreciendo significativamente la formación de hojas por brote. Cuadro 9.

Cuadro 9. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el segundo subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”

Tratamientos (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas de brotes
AIA	6-BAP					
0.00	0	2.17 b	2.95 a	0.40 de	0.19 b	0.45 c
0.25	0	2.91 a	3.25 a	0.18 e	0.21 b	0.43 c
0.50	0	2.97 a	3.26 a	0.22 e	0.15 b	0.32 c
0.00	1	1.50 c	3.45 a	0.55 cde	0.35 ab	0.80 bc
0.25	1	1.40 c	3.25 a	1.00 bcd	0.51 ab	1.06 abc
0.50	1	1.42 c	3.18 a	0.75 bcde	0.33 ab	0.68 bc
0.00	2	1.25 c	3.25 a	0.95 bcd	0.56 ab	1.70 a
0.25	2	1.48 c	3.15 a	0.80 bcde	0.52 ab	1.00 abc
0.50	2	1.18 c	3.40 a	1.35 ab	0.58 ab	1.35 ab
0.00	3	1.47 c	3.40 a	1.85 a	0.67 a	1.55 ab
0.25	3	1.33 c	3.40 a	1.20 abc	0.61 ab	1.35 ab
0.50	3	1.52 c	3.45 a	1.40 ab	0.54 ab	1.05 abc

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

En los tratamientos T₂ y T₃, que contenían 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA, los porcentajes de plantas que emitieron cuatro o más raíces fueron del 100 % y 95 %, respectivamente. En el tratamiento

T₁, sin reguladores de crecimiento, este porcentaje fue del 60 %. En los tratamientos que combinaron 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA con 1 mg L⁻¹ de 6-BAP, se obtuvo un 80 % de plantas con cuatro o más raíces, mientras que en el tratamiento T₁₀, con 3 mg L⁻¹ de 6-BAP, únicamente el 25 % de las plantas desarrolló cuatro o más raíces (Figura 16).

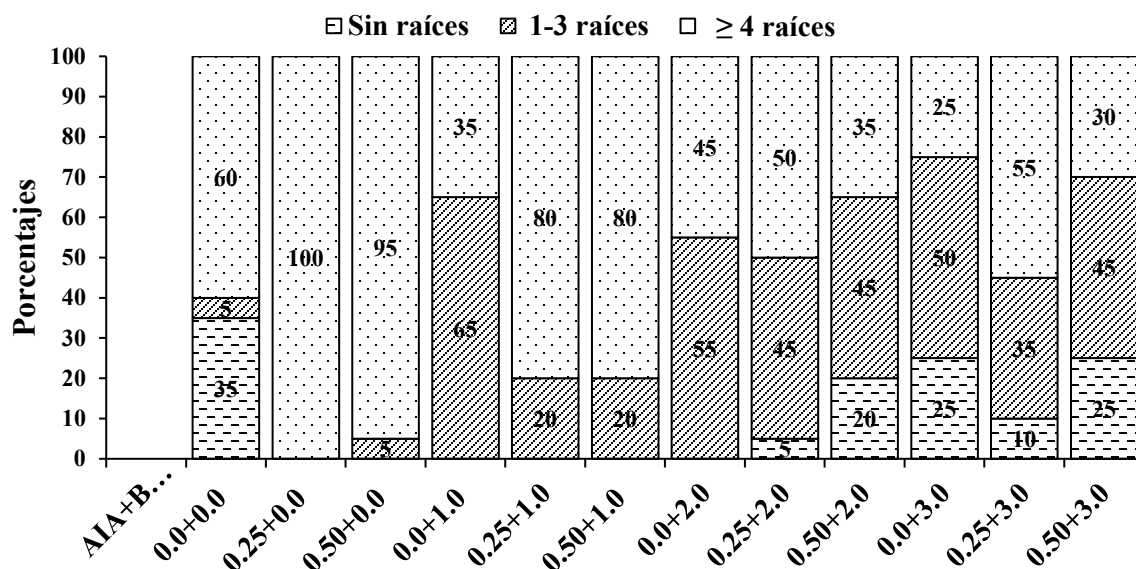


Figura 16. Plantas regeneradas a partir de tejidos AR de la variedad “Lila” en el segundo subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

5.3.6 Tercer subcultivo con tejidos de AR

La longitud de planta presentó las mayores medias en los tratamientos sin 6-BAP: T₁ (0.00 mg L⁻¹ AIA + 0 mg L⁻¹ 6-BAP) con 2.50 cm, T₂ (0.25 mg L⁻¹ AIA + 0 mg L⁻¹ 6-BAP) con 3.96 cm y T₃ (0.50 mg L⁻¹ AIA + 0 mg L⁻¹ 6-BAP) con 3.42 cm, los cuales no difirieron estadísticamente entre sí y fueron significativamente superiores a los tratamientos que contenían 6-BAP, donde la longitud disminuyó progresivamente con el aumento de este regulador, alcanzando 0.73 a 2.16 cm en T₇ a T₁₂.

En cuanto al número de hojas por planta, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, ya que todas las medias oscilaron entre 2.75 y 3.65 hojas por planta, sin una respuesta definida por efecto de los reguladores de crecimiento.

Para el número de brotes, el tratamiento con 1 mg L⁻¹ de 6-BAP sin AIA (T₄) registró la mayor media, estadísticamente superior a la mayoría de los tratamientos. Este rendimiento fue similar únicamente al observado en T₅, T₈, T₉ y T₁₁. Los valores más bajos correspondieron a los tratamientos sin 6-BAP (T₁, T₂ y T₃), que presentaron diferencias significativas con respecto a los tratamientos que incluyeron citoquinina.

En la longitud de brotes, el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento T₅ (0.25 mg L⁻¹ AIA + 1 mg L⁻¹ 6-BAP), que no difirió estadísticamente de T₄, T₈, T₉ y T₁₁. En contraste, las menores medias correspondieron a los tratamientos sin 6-BAP (T₁, T₂ y T₃), que fueron estadísticamente inferiores. Finalmente, el número de hojas por brote fue significativamente superior en los tratamientos T₄ y T₅ (1 mg L⁻¹ 6-BAP, con o sin AIA), que mostraron las medias más altas, estadísticamente iguales a T₉ y T₁₁. En contraste, los tratamientos sin 6-BAP (T₁, T₂ y T₃) registraron las menores medias y fueron estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos con citoquinina. Cuadro 10.

Cuadro 10. Longitud de plantas, número de hojas, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en el tercer subcultivo de plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad “Lila”

Tratamientos (mg L ⁻¹)		Longitud de planta (cm)	Número de hojas	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas por brote
AIA	6-BAP					
0.00	0	2.50 a	2.75 a	0.035 e	0.015 g	0.08 e
0.25	0	3.96 a	3.12 a	0.062 de	0.062 efg	0.12 de
0.50	0	3.42 a	3.10 a	0.050 de	0.025 fg	0.10 e
0.00	1	2.16 b	3.05 a	1.50 a	0.45 ab	1.50 a
0.25	1	1.94 bc	3.45 a	1.10 ab	0.47 a	1.45 a
0.50	1	1.36 cd	3.20 a	0.70 bcd	0.21 cdef	0.70 bcd
0.00	2	0.94 de	3.05 a	0.35 cde	0.10 defg	0.40 cde
0.25	2	1.14 de	3.30 a	0.75 bc	0.27 bcd	0.85 bc
0.50	2	0.90 de	3.00 a	1.00 abc	0.26 bcd	1.25 ab
0.00	3	0.73 e	3.20 a	0.65 bcde	0.17 cdefg	0.45 cde
0.25	3	1.22 de	3.55 a	1.00 abc	0.32 abc	0.80 bc
0.50	3	1.01 de	3.65 a	0.70 bcd	0.22 cde	0.55 cde

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

Los mayores porcentajes de plantas con cuatro o más raíces se observaron en los medios que contenían 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA, superando significativamente a los porcentajes de plantas

sin raíces en los medios con 0.0, 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA combinados con 2 y 3 mg L⁻¹ de 6-BAP (Figura 17).

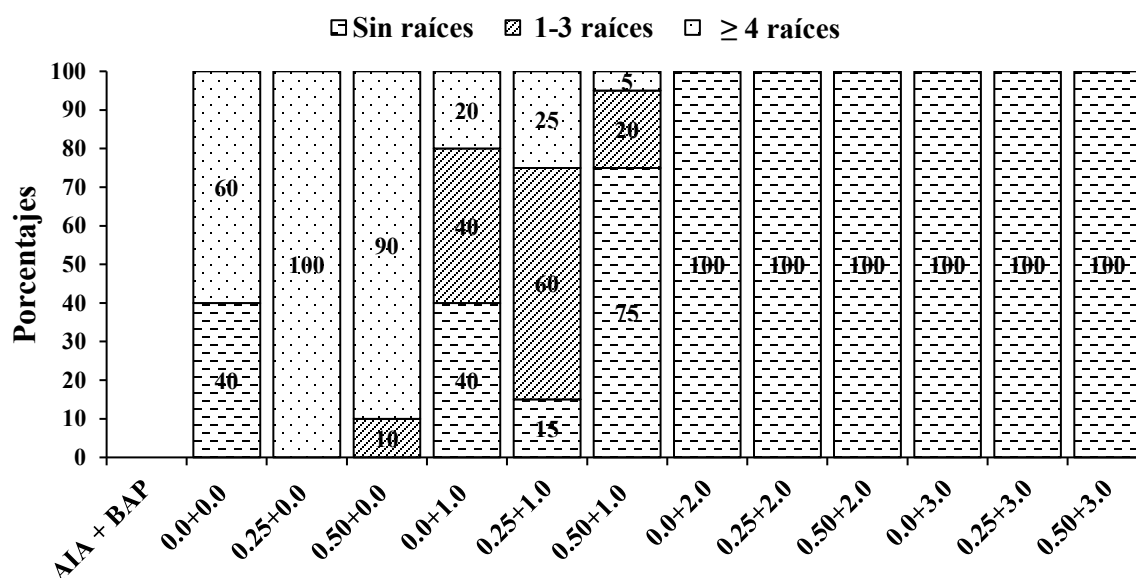


Figura 17. Plantas regeneradas a partir de tejidos AR de la variedad “Lila” en el tercer subcultivo. Los porcentajes de emisión de raíces se obtuvieron a partir de las plantas evaluadas por tratamiento: inferior, plantas sin raíces; centro, plantas con 1 a 3 raíces; superior, plantas con 4 o más raíces.

Las plántulas reproducidas a partir de explantes obtenidos de yemas AR podrían contener un menor contenido de AIA endógeno, ya que en los tres subcultivos evaluados la cantidad de raíces producidas fue menor en comparación con las plantas provenientes de tejidos de yemas ACM. Esta diferencia se acentúa a medida que se incrementa la concentración de 6-BAP. Monje et al. (1987), trabajando con dos variedades de quequisque, determinaron que combinaciones hormonales de 15 mg L⁻¹ de AIA y 2 mg L⁻¹ de kinetina favorecieron la regeneración de plántulas en la variedad de quequisque blanco, mientras que 10 mg L⁻¹ de AIA resultó más favorable para la variedad de quequisque morado.

5.3.7 Número de tejidos por frasco ACM

Se evaluó el efecto del 4, 5 y 6 de explantes por frasco en diferentes variables de crecimiento *in vitro*. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en las medias de las variables longitud de plantas, número de hojas y en el número de brotes entre los tratamientos.

Con tejidos provenientes de ACM la longitud de plantas osciló entre 2.17 y 2.34 cm, con los tratamientos de 5 y 6 explantes por frasco presentando valores ligeramente superiores, aunque no estadísticamente diferentes al tratamiento con 4 explantes. El número de hojas también mostró valores similares entre los tratamientos, con medias entre 3.60 y 3.75 hojas por planta. El número de brotes fue bajo y estadísticamente similares en los tratamientos, con valores entre 0.33 y 0.55 brotes axilares por planta.

En contraste, el número de raíces mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. El tratamiento con 6 explantes por frasco alcanzó la mayor media en número de raíces (7.82), seguido por el tratamiento con 5 explantes (7.56), ambos estadísticamente superiores al tratamiento con 4 explantes, que presentó el menor número de raíces (4.10). Estos resultados indican que un mayor número de explantes por frasco favorece la producción de raíces en las plantas cultivadas *in vitro*. Cuadro 11.

Cuadro 11. Longitud de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en plantas obtenidas de ápices de cormos madres (ACM) de la variedad “Lila”

Explantes por frasco	Longitud de plantas	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces
4	2.17 a	3.75 a	0.55 a	4.10 b
5	2.34 a	3.60 a	0.36 a	7.56 ab
6	2.32 a	3.68 a	0.33 a	7.82 a

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

5.3.8 Número de tejidos por frasco AR

Se evaluaron diferentes variables de crecimiento en explantes cultivados en frascos con 4, 5 y 6 plantas, respectivamente. Con tejidos provenientes de ápices de rebrotes (AR) Los resultados muestran que la longitud de las plantas varió entre 1.92 y 2.14 unidades, sin diferencias significativas entre los tratamientos. De manera similar, el número de hojas fluctuó entre 3.15 y 3.48, también sin diferencias estadísticas relevantes.

En cuanto al número de brotes, se observaron valores entre 0.63 y 1.20, manteniéndose constantes y sin diferencias significativas entre los distintos números de plantas por frasco. Por último, el número de raíces osciló entre 6.92 y 9.00, con un ligero aumento conforme se

incrementó el número de plantas por frasco, aunque tampoco se reportaron diferencias estadísticas relevantes.

Estos resultados indican que el número de explantes por frasco (4, 5 o 6) no afecta significativamente la longitud, número de hojas, brotes ni raíces de las plantas bajo las condiciones experimentales evaluadas. Cuadro 12.

Cuadro 12. Longitud de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes, longitud de brotes y número de hojas por brote en plantas obtenidas de ápices de rebrotes (AR) de la variedad Lila

Explantes Por frasco	Longitud plantas	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces
4	1.92 a	3.15 a	0.95 a	6.92 a
5	2.12 a	3.48 a	1.20 a	7.72 a
6	2.14 a	3.48 a	0.63 a	9.00 a

Letras distintas difieren estadísticamente entre sí, para la prueba de rangos múltiples de Duncan $\alpha = 0.05$.

En el presente estudio, se evaluó el efecto del número de explantes por frasco (4, 5 y 6) sobre variables de crecimiento *in vitro* de quequisque “Lila”, utilizando tejidos provenientes de ápices de cormos madre (ACM) y de ápices de rebrotes (AR). En ambos casos, la longitud de las plantas, el número de hojas y el número de brotes axilares no mostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que sugiere que la densidad de explantes dentro del rango evaluado no afecta significativamente estos parámetros morfológicos.

La longitud de las plantas osciló entre 1.92 y 2.34 cm, con valores ligeramente superiores en los tratamientos con 5 y 6 explantes por frasco en tejidos ACM, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente relevantes. Resultados similares han sido reportados en estudios previos sobre cultivo *in vitro* de *Xanthosoma* spp. por Pérez et al., 2018; Gómez y Martínez, 2020), donde las variaciones en densidad de explantes no afectaron significativamente el crecimiento en longitud ni la formación foliar, posiblemente debido a la capacidad de las plantas para adaptarse a las condiciones de cultivo y al espacio disponible dentro del frasco.

El número de brotes axilares fue bajo y homogéneo en todos los tratamientos evaluados, con valores entre 0.33 y 1.20 brotes por planta, coincidiendo con observaciones de otros autores (López et al., 2017) que indican que la multiplicación de brotes en quequisque puede requerir ajustes en los reguladores de crecimiento o en el medio para inducir una mayor proliferación.

En contraste, el número de raíces mostró diferencias significativas cuando se utilizó tejido procedente de ACM, siendo mayor en los tratamientos con 5 y 6 explantes por frasco en comparación con 4 explantes. Este aumento en la formación radicular podría estar relacionado con una mejor interacción entre explantes o con un balance hormonal favorable en densidades más altas, lo cual coincide con estudios que reportan que la competencia entre explantes puede estimular procesos de enraizamiento (Ramírez et al., 2019). Sin embargo, en los explantes provenientes de AR, no se observaron diferencias significativas en el número de raíces, lo que podría atribuirse a características fisiológicas diferentes de este tipo de tejido o a su respuesta más uniforme ante las condiciones de cultivo.

De acuerdo con los resultados la producción de raíces fue mayor con 6 explantes por frasco, debido posiblemente a una mayor difusión de auxinas por parte de los explantes. Diferentes autores reportados por Lee (1998) destacan que cuando se inoculan una mayor densidad de explantes por frasco se produce una mayor cantidad de brotes o de raíces, debido posiblemente a que los explantes difunden sustancias como las auxinas y las citoquininas.

Paiz (2006), reporta que en el comportamiento de la variedad Masaya reproducido a partir de ápices de corno madre (CM) no se observó brotación múltiple con 4 explantes por frasco, en los demás tratamientos se presentaron en diferentes porcentajes de acuerdo con el número de explantes por frasco y a la procedencia del material inicial seleccionado para la propagación.

Estos hallazgos sugieren que, bajo las condiciones experimentales establecidas, el número de explantes por frasco no afecta significativamente la mayoría de las variables morfológicas evaluadas en la variedad de quequisque “Lila”, aunque un incremento en la densidad de explantes puede favorecer la formación de raíces en tejidos específicos. En concordancia con estudios anteriores, es importante considerar que factores como el tipo de explante, la composición del medio, y la concentración de reguladores de crecimiento pueden ser determinantes para optimizar la multiplicación *in vitro* de este cultivo.

Futuros trabajos podrían explorar combinaciones de estos factores para mejorar la proliferación y el enraizamiento, contribuyendo así a un protocolo eficiente para la propagación masiva de quequisque.

VI. CONCLUSIONES

El uso de 6-BAP fue esencial para evitar la oxidación y promover la formación de plantas, con mejor respuesta en ACM que en AR. El tratamiento T₇ (0 mg L⁻¹ AIA + 2 mg L⁻¹ 6-BAP) fue el más eficiente para ACM y T₅ (0.5 mg L⁻¹ AIA + 1 mg L⁻¹ 6-BAP) resultó óptimo para AR.

La adición de 6-BAP fue determinante para la inducción y desarrollo de brotes en los tres subcultivos, destacándose las concentraciones de 2 mg L⁻¹ combinadas con 0.25-0.50 mg L⁻¹ de AIA como las más eficientes para la brotación en tejidos ACM y AR, mientras que la ausencia de citoquinina favoreció únicamente el crecimiento en longitud y la formación de raíces.

Con fuentes de tejidos ACM y AR, en número de brotes axilares no se obtuvieron diferencias estadísticas en densidades de 4, 5 y 6 tejidos por frasco.

VII. RECOMENDACIONES

Para optimizar la formación de brotes y reducir la oxidación en fase de establecimiento, se recomienda utilizar 6-BAP como citoquinina principal, priorizando el tratamiento T7 (0 mg L^{-1} AIA + 2 mg L^{-1} 6-BAP) en explantes ACM y T5 (0.5 mg L^{-1} AIA + 1 mg L^{-1} 6-BAP) en explantes AR, según la respuesta diferencial observada.

Durante la fase de multiplicación, se sugiere emplear concentraciones intermedias de reguladores, específicamente 2 mg L^{-1} de 6-BAP combinadas con $0.25\text{--}0.50 \text{ mg L}^{-1}$ de AIA, ya que favorecen una brotación eficiente en ambos tipos de tejido. El uso de medios sin citoquinina debe limitarse solo a fines de elongación o inducción de raíces.

VIII. LITERATURA CITADA

- Auge, A. and Boccon-Gibod, J. (1984). Les applications a l'horticulture. En : La Culture *in vitro* et ses Applications Horticoles (ed.). Technique et Documentation. Lavoisier, Paris, pp : 152.
- Caligari, P. D. S., & Powell, W. (1989). *Variability in response of potato cultivars to micropropagation. I. In vitro performance*. Annals of Applied Biology, 115, 115-121. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1989.tb04674.x> SpringerLink
- Centro de Exportaciones e Inversiones de Nicaragua. (2005). Servicio de Inteligencia Comercial. Nicaragua: exportaciones Enero-diciembre 2004. Managua, Nicaragua: CEI.
- Debergh, P. C and A. M. Vandershaeghe. (1996). Some symptoms indicating the presence of bacterial contaminants in plant tissue culture. Acta Hort, 225:77-83.
- Debergh, P. C. (1988). Micropropagation of woody species-state of the art on *in vitro* aspects. Acta Hort. 227, 287-295.
- Debergh, P. C., & Maene, L. J. (1981). A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 14(4), 335-345. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90047-9](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90047-9)
- Debergh, P. C., & Maene, L. J. (1983). Contribution of tissue culture techniques to horticultural reseARh and production. *Acta Horticulturae*, 131, 23-37. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1983.131.22>
- Deborah, P. C., & Maene, L. J. (1981). A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 14(5), 335-345. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90047-9](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90047-9)
- Dottin, M. P. (2000). Propagación *in vitro* de la malanga (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott). Tesis de Doctorado. Universidad Central de Las Villas, Cuba. 119 p.
- Flores, R., & Gómez, M. (2020). *Propagación in vitro de quequisque (Xanthosoma violaceum) variedad Lila en fase de enraizamiento*. Universidad Nacional Agraria (UNA). Recuperado de <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf02a481.pdf>
- Gaitán, A., & Flores, L. (2019). *Organogénesis directa en quequisque (Xanthosoma violaceum) cultivar Masaya mediante cultivo in vitro*. Universidad Nacional Agraria (UNA). Recuperado de <https://repositorio.una.edu.ni/1980>
- García, M. (1999). Tecnología para la micropropagación de la malanga: una solución al rescate de este cultivo en Cuba. Libro de resúmenes, BIOVEG-97. Ciego de Ávila, Cuba.
- George, E. (1993). Plant propagation by tissue culture. The Tecnology. (Ed). Exegetics Limited, Edington, Wilts, England. 9-65.

- George, E. F. (1993). *Plant propagation by tissue culture. Part 1: The technology* (3rd ed.). Exegetics Ltd.
- George, E. F., & Debergh, P. C. (2008). *Micropropagation: Uses and methods*. En E. F. George, M. A. Hall, & G.-J. de Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed., Vol. 1, pp. 29–64). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (Eds.). (2008). *Plant propagation by tissue culture. Volume 1: The background* (3ª ed.). Springer
- Gómez, K. (1998). Embriogénesis somática. En: *Propagación y Mejora Genética de plantas por Biotecnología* (ed) Pérez Ponce. Santa Clara, Cuba, pp. 57-79.
- Gómez, L., & Martínez, P. (2020). *Efecto de la densidad de explantes en el cultivo in vitro de Xanthosoma spp.* Revista Colombiana de Biotecnología Vegetal, 15(2), 45-52. <https://doi.org/10.1234/rcbv.v15i2.2020>
- Gómez, L., Valverde, R., Arias, O y Thorpe, T. (1992). Regeneración de tiquisque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*) por embriogénesis somática. *Agronomía Costarricense*: 16(2):219-223.
- Gupta, P. (1985). Plant regeneration and variabilities from tissue culture of cocoyam (*X. sagittifolium*) and (*X. violaceum*). *Plant Cell Report* 4:88-91.
- Hasegawa, T., Matsubara, Y., & Asahira, T. (1973). Studies on micropropagation of fruit trees. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 42(3), 255–263. <https://doi.org/10.2503/jjshs.42.255>
- Hu, C. Y., & Wang, P. J. (1983). Meristem shoot tip and bud culture. En D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato & Y. Yamada (Eds.), *Handbook of plant cell culture* (pp. 177–227). Macmillan.
- Jiménez, E. (1995). *Propagación in vitro de la caña de azúcar (Saccharum spp híbrido)* (Tesis doctoral). Universidad Central de las Villas.
- Jiménez, G. E. (1998). Propagación y Mejora Genética de plantas por biotecnología. En *Cultivo de ápices y meristemas*. (ed) Pérez Ponce. Santa Clara, Cuba: pp 45-46.
- López, M., E. Vásquez y López, R. (1995). Raíces y Tubérculos. (eds) R, Ojeda; González, L. y Mora L. La Habana, Cuba: pp 98-221.
- López, M., Torres, J., & Sánchez, R. (2017). *Multiplificación de brotes axilares en cultivo in vitro de Xanthosoma*. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 22(4), 123-130.
- López, M., Vásquez, E., & López, R. (1995). Raíces y tubérculos (2.ª ed.). La Habana: Pueblo y Educación; Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. 312 pp. ISBN 959-130-355-6.

- McDonald, H. (1997). Percepción de auxinas y transducción de señales. *Physiologia Plantarum*, 100, 423–430.
- Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant physiol.* 25: 135–166.
- Murashige, T. y F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Murashige, T., Bitters, W.P., Rangan, T.S., Nauer, E.M., Roistacher, C.N. and Holliday, B.P. (1972). A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clones. *HortScience*, 7: 118-119.
- Nyochembeng, L. y Garton, S. (1998). Plant regeneration from cocoyam callus derived from shoot tips and petioles. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 53:127-134.
- Omokolo, N. D., Boudjeko, T., & Tsafack, T. J. J. (2003). *In vitro* tuberization of *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott: Effects of phytohormones, sucrose, nitrogen and photoperiod. *Scientia Horticulturae*, 98(4), 337–345. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00029-0)
- Onokpise, I. C and Charles, W. B. 1994. Tropical root and tuber crops. Production, perspectives and future prospects. FAO. (Food Agriculture Organization of the United Nations) Rome, Italy: pp 85-86.
- Pérez, A., Ramírez, F., & Castillo, G. (2018). Optimización del cultivo *in vitro* de *Xanthosoma* spp. mediante regulación hormonal. *Revista de Biotecnología y Desarrollo*, 10(1), 77-85.
- Pierik, R. L. M. (1987). *In vitro culture of higher plants*. Dordrecht, Países Bajos: Martinus Nijhoff Publishers. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-3589-6>
- Pierik, R.L.M., (1987). *In Vitro Culture of Higher Plant*. by Martinus Nijhoff publishers, Dordrech. Printed in Netherlands. 341-346.
- Preece, J. E., & Sutter, E. G. (1991). Problems and progress in micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 27(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/BF00042146>
- Ramírez, F., Pérez, A., & Gómez, L. (2019). Influencia de la densidad de explantes en el enraizamiento *in vitro* de *Xanthosoma*. *Acta Agronómica*, 68(3), 210-218. <https://doi.org/10.5678/aa.v68i3.201>
- Reyes, G. y Aguilar, M. (2005). Reproducción acelerada de quequisque (*Xanthosoma* ssp.) y malanga (*Colocasia* ssp.). Guía Técnica N° 8. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. 11Pp.

- Sama, A. E., Kumar, S., & Anis, M. (2012). An efficient in vitro propagation protocol of cocoyam [*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott]. The Scientific World Journal, 2012, Article 346595. <https://doi.org/10.1100/2012/346595>
- Stone, O. M. (1993). Factors affecting the growth of carnation plants from shoot apices. Ann. Appl. Biol. 52: 199 – 209.
- Van Huylenbroeck, J., & Debergh, P. C. (1996). Physiological aspects in acclimatization of micropropagated plantlets. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 2, 136-141.
- Vaughn, K. C. (1984). Plant tissue culture and its agricultural applications. Science, 224(4653), 792–797. <https://doi.org/10.1126/science.224.4653.792>
- Villalobos, V., & García, V. A. (1982). Obtención de plantas de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) libres de virus por cultivo in vitro de meristemos y ápices vegetativos. Agrociencia, 48, 107–118.
- Zeledón Mairena, M. A. (2006). Multiplicación in vitro de *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott utilizando yemas axilares. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. Recuperado de <https://repositorio.una.edu.ni/1975/1/tnf62z49.pdf>
- Zettler, F. W. Jackson, G.V. and Frison, E. A. (1989). FAO/IBGR. Technical Guidelines for Safe Movement of Edible Aroid Germplasm. Food Agriculture Organization of the United Nations, Rome/International Board for Plant Genetic Resources, Rom