



“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

## FACULTAD DE AGRONOMÍA

### Trabajo de Tesis

**Efecto de la aplicación de colchicina *in vitro*  
sobre la morfología y citología en dos  
cultivares de malanga (*Colocasia esculenta*  
L. Schott)**

#### Autores

**Br. Anner Noel Tinoco Rocha**

**Br. Luis David Cruz López**

#### Asesores

**MSc. Rosario García Loáisiga**

**MSc. Heeidy Corea Narváez**

**PhD. Guillermo Reyes Castro**

**Managua, Nicaragua**

**Marzo, 2023**



“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

## FACULTAD DE AGRONOMÍA

### Trabajo de Tesis

## Efecto de la aplicación de colchicina *in vitro* sobre la morfología y citología en dos cultivares de malanga (*Colocasia esculenta* L. Schott)

### Autores

**Br. Anner Noel Tinoco Rocha**

**Br. Luis David Cruz López**

### Asesores

**MSc. Rosario García Loáisiga**

**MSc. Heedy Corea Narváez**

**PhD. Guillermo Reyes Castro**

Presentado a la consideración del honorable comité  
evaluador como requisito final para optar al grado de  
Ingeniero Agrónomo

**Managua, Nicaragua**  
**Marzo, 2023**



Hoja de aprobación del Comité evaluador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

***Ingeniero Agrónomo***

---

Miembros del comité evaluador

---

Presidente (Grado académico y nombre)

Secretario (Grado académico y nombre)

Vocal (Grado académico y nombre)

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_

## **DEDICATORIA**

A Dios, fuente de todo conocimiento.

A mi Madre Ivania Rocha Tinoco por quien llego a la finalidad de estos estudios.

A todos aquellos que fueron parte de la motivación para que culminara esta etapa académica.

**Br. Anner Noel Tinoco Rocha**

## **DEDICATORIA**

Dedico, primeramente, a Dios padre todo poderoso por todas sus bendiciones, por la salud y la vida que me ha regalado cada día, por brindarme la sabiduría y entendimiento al guiar mis pasos y por poder permitir cumplir mi sueño de ser un profesional. A mi madre Bertha Auxiliador López, por regalarme la vida, su apoyo en cada momento de mi vida y el sacrificio que ella a hecho por verme crecer como persona

A mis hermanas y familiares que siempre han estado ahí para apoyarme en todos los momentos difíciles que he pasado en el transcurso de la carrera.

**Br. Luis David Cruz López**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios Padre, dador de vida.

A mi Madre Ivania Rocha Tinoco por el impulso hacia la culminación de esta carrera.

Al Ing. José Rene Jarquín por ser ejemplo de compañerismo en el transcurso de nuestra carrera, por ser parte fundamental de la misma.

A los asesores PhD. Guillermo Reyes, MSc. Heidy Corea y MSc. Rosario García por la paciencia y acompañamiento en la finalidad de esta etapa académica.

**Br. Anner Noel Tinoco Rocha**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme la salud y bendecirme en todos mis días de poder brindarme el entendimiento para lograr culminar esta etapa de mi vida. A mi madre Bertha Auxiliadora López por haberme apoyado económica y emocionalmente durante todo mi proceso de aprendizaje y seguirme apoyando para culminar mi trabajo de graduación, por sus consejos, por sus regaños que hicieron de mí un hombre de bien.

A toda mi familia por haberme apoyado durante toda mi vida, mis hermanas Ninoska Auxiliadora López, Lidia Nayeli López, mis primos y tíos que directa e indirectamente influyeron sobre mi educación, en especial a mi abuela Lidia López que siempre me apoyo en todo.

A mis asesores Phd. Guillermo Reyes, MSc. Heidy Corea y MSc. Rosario García por sus múltiples explicaciones, paciencia, y dedicación en el desarrollo de este trabajo.

Y a todos mis compañeros de clase que han sido como una familia para mí por todo el apoyo incondicional que los brindaron en todo este tiempo transcurrido.

**Br. Luis David Cruz López**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
<b>DEDICATORIA</b>	i
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iii
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	v
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vi
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	vii
<b>RESUMEN</b>	viii
<b>ABSTRACT</b>	ix
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II OBJETIVOS</b>	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivo específico	3
<b>III MARCO DE REFERENCIA</b>	4
3.1 Colchicina	4
3.2 Cultivo <i>in vitro</i>	4
3.3 Cultivo de malanga	5
3.4 Morfología y anatomía de la malanga	5
3.5 Ciclo de crecimiento de la malanga	6
3.6 Enfermedades de la malanga	6
<b>IV MATERIALES Y MÉTODOS</b>	7
4.1 Ubicación del estudio	7
4.2 Diseño metodológico	7
4.2.1 Origen del material vegetal	7
4.2.2 Inducción con colchicina	7
4.2.3 Aclimatización	8
4.3 Variables evaluadas	8
4.3.1 Variables morfológicas <i>in vitro</i>	8
4.3.2 Variables morfológicas en invernadero	8
4.3.3 Evaluación de variables citológicas	9
4.4 Análisis estadístico	10
<b>V RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	11
5.1 Variables morfológicas en etapa <i>in vitro</i>	11
5.2 Variables morfológicas en invernadero	13
5.3 Variables citológicas	16



<b>VI</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	21
<b>VII</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	22
<b>VIII</b>	<b>LITERATURA CITADA</b>	23
<b>IX</b>	<b>ANEXOS</b>	28

---

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Dosis de colchicina utilizadas en plantas <i>in vitro</i> de malanga Blanca y Lila en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Nacional Agraria, 2019	7
2. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de altura de planta, número de hojas y número de raíces evaluadas a los 23 y 36 días después de la aplicación de colchicina en vitroplantas de malanga Lila, 2019	11
3. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de altura de planta, número de hojas y número de raíces evaluadas a los 23 y 36 días después de la aplicación de colchicina en vitroplantas de malanga Blanca, 2019	12
4. Análisis de varianza p valor ( $\alpha < 0.05$ ) por los factores cultivar, tratamiento e interacción cultivar-tratamiento (Cul*Trat) de las variables altura de planta, número de hojas y raíces evaluadas a los 36 días después de la aplicación a vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019	12
5. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis medias y categorías estadísticas de altura de planta (cm), número de hojas, área foliar (cm <sup>2</sup> ) y diámetro de pseudotallo (cm) evaluadas a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila establecidas en invernadero, 2019	14
6. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis medias y categorías estadísticas de altura de planta (cm), número de hojas, área foliar (cm <sup>2</sup> ) y diámetro de pseudotallo (cm) evaluadas a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Blanca establecidas en invernadero, 2019	14
7. Análisis de varianza p valor ( $\alpha < 0.05$ ) por cultivar, tratamiento e interacción cultivar-tratamiento en las variables altura de planta, número de hojas, área foliar y diámetro del pseudotallo evaluadas en el invernadero a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019	15
8. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de variables citológicas (número de estomas por cm <sup>2</sup> , número de cloroplastos por estomas y largo de estomas (μm) evaluadas a los 110 días después del trasplante en el cultivar Lila	17
9. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de variables citológicas (número de estomas por cm <sup>2</sup> , número de cloroplastos por estomas y largo de estomas (μm) evaluadas a los 116 días después del trasplante en cultivar Blanco	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Porcentaje de sobrevivencia <i>in vitro</i> (36 días después de la aplicación) y en invernadero (72 días después del trasplante) de plantas <i>in vitro</i> de los tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60 en a. malanga Blanca y b. malanga Lila.	15
2.	Largo de estomas y número de cloroplastos por estoma de los tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60 de malanga Lila evaluadas a los 110 días después de la aplicación de colchicina	17
3.	Largo de estomas y número de cloroplastos por estoma de los tratamientos T0, T10, T20 y T60 de malanga Blanca evaluadas a los 110 días después de la aplicación de colchicina	18

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Vitroplantas de malanga de los cultivares Blanco y Blanco evaluadas a los 23 días después de la aplicación de colchicina	28
2.	Vitroplantas de malanga (a=cultivar lila; b=cultivar blanco) tratadas con colchicina en invernadero a los 50 días después del trasplante	29
3.	Hojas de malanga de los cultivares Blanco y Lila tratadas con diferentes concentraciones de colchicina (tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60) utilizadas para la evaluación de las variables citológicas	29
4.	Separación de medias según Tukey (0.95% de confianza) a los 36 días después de la aplicación de colchicina a vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019	30
5.	Separación de medias según Tukey (0.95% de confianza) de las variables morfológicas en invernadero a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019	31

## RESUMEN

El cultivo de malanga (*Colocasia esculenta* L.), es un cultivo de gran importancia económica y alimenticia. En Nicaragua se siembran dos cultivares de malanga, Lila y Blanca. Se evaluó el efecto *in vitro* de colchicina en cambios morfológicos y citológicos en dos cultivares de malanga. Se establecieron 100 vitroplantas de malanga Lila y 100 de malanga Blanca por 10 días en medio MS con 0, 10, 20, 40 y 60 mg l<sup>-1</sup> de colchicina (T0, T10, T20, T40 y T60). Se evaluaron *in vitro* altura de planta (cm), número de hojas y raíces a los 23 y 36 días después de la aplicación de colchicina (ddac). A los 103 ddac las vitroplantas se establecieron en invernadero. Se evaluaron variables morfológicas y citológicas (número y largo de estomas y número de cloroplastos por estomas). En la etapa *in vitro* a los 23 y 36 ddac las vitroplantas de malanga Blanca desarrolladas en T0, T10 y T20 resultaron significativamente superiores en altura de la planta, número de hojas y raíces; en el cultivar Lila, los tratamientos T0 y T10 fueron superiores en altura de la planta. En el número de hojas T0, T10, T20 fueron superiores a los 36 ddac. En el número de raíces, T0 y T10 fueron superiores a los 36 ddac. En la etapa de invernadero en malanga Blanca no hubo diferencia significativa número de hojas y diámetro de pseudotallo, en altura de planta T20 y T60 fue inferior y en área foliar T60 fue inferior; en malanga Lila el tratamiento T60 fue inferior en altura de planta, área foliar y diámetro de pseudotallo, en número de hojas no hubo diferencias significativas. En las variables citológicas en malanga Lila el tratamiento T0 fue superior estadísticamente en número de estomas por cm<sup>2</sup>, en número de cloroplastos por estomas T20 fue inferior y en largo de estomas el T60 fue superior estadísticamente; en malanga Blanca T0 y T10 fueron superior en número de estomas por cm<sup>2</sup>, T0 y T60 fue superior en número de cloroplastos por estomas y en largo de estomas T60 fue estadísticamente superior.

**Palabras clave:** Cultivo *in vitro*, inducción de poliploidía, mejoramiento genético.

## ABSTRACT

Taro cultivation (*Colocasia esculenta* L.), has great economic and nutritional importance. Two taro cultivars are planted in Nicaragua, Lila and Blanca. The *in vitro* effect of colchicine on morphological and cytological changes in two taro cultivars was evaluated. 100 Lila taro and 100 Blanco taro vitroplants were established for 10 days in MS medium with 0, 10, 20, 40 and 60 mg l<sup>-1</sup> of colchicine (T0, T10, T20, T40 and T60). Plant height (cm), leaves and roots number were evaluated *in vitro* at 23 and 36 days after the application of colchicine (ddac). At 103 dac the vitroplants were established in a greenhouse. Morphological and cytological variables (number and length of stomata and number of chloroplasts per stomata) were evaluated. In the *in vitro* stage at 23 and 36 ddac. In the *in vitro* stage at 23 and 36 daac, the *in vitro* plants of Blanco Taro developed in T0, T10 and T20 were significantly higher in plant height, leaves and roots number; in the Lila cultivar, the T0 and T10 treatments were higher in plant height. In the leaves number T0, T10, T20 they were higher at 36 dac. In the roots number, T0 and T10 were higher than 36 dac. In the greenhouse stage in Blanco taro there was no significant difference in leaves number and pseudostem diameter, in plant height T20 and T60 iwas lower and in leaf area T60 was lower; In Lila taro Lila the T60 treatment was lower in plant height, leaf area and pseudostem diameter, there were no significant differences in leaves number. In the cytological variables in Lila taro the T0 treatment was statistically superior in number of stomata per cm<sup>2</sup>, in number of chloroplasts per stomata T20 was lower and in stomata length T60 was statistically higher; in Blanco taro T0 and T10 were higher in number of stomata per cm<sup>2</sup>, T0 and T60 were higher in number of chloroplasts per stomata and in length of stomata T60 was statistically higher.

**Keywords:** *In vitro* culture, polyploidy induction, plant breeding.

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la malanga (*Colocasia esculenta* L.), es originaria del sureste de Asia, pertenece a la familia de las aráceas, género *Colocasia* (López *et al.*, 1984) es un cultivo de gran importancia económica y alimenticia. Según Wilson (1984) la malanga es un cultivo cuyos cormos, cormelos y hojas son consumidos en diversas maneras por ser rica en carbohidratos, grasas y aminoácidos (p. 589-605).

De acuerdo a CETREX (Centro de Trámites de las Exportaciones, 2022), la exportación total de malanga y quequisque en el año 2021 fue de 9,833 toneladas y hasta octubre del 2022 se registraron 6,636 toneladas exportadas.

Según Asociación para la diversificación y desarrollo agrícola comunal (ADDAC, 2009) y Enríquez y Mairena (2011) en Nicaragua se siembran dos cultivares de malanga, Lila y Blanca. El cultivar de mayor producción es la malanga Lila (conocido también como malanga Coco) debido a que se exporta, alto potencial de rendimiento y consumo nacional.

Viguera *et al.* (2017) menciona que la agricultura es uno de los sectores más vulnerables al cambio climático a nivel mundial, ya que es altamente sensible a los cambios de temperatura y a los regímenes de precipitación. Los modelos climáticos prevén cambios drásticos en las condiciones climáticas en muchas regiones del mundo, incluyendo cambios en temperatura, precipitación e incremento en la frecuencia y severidad de eventos extremos como sequías y huracanes. Estos cambios tendrán efectos en el rendimiento y distribución de los cultivos, en la variación de los precios, la producción y el consumo (p. 7).

Góngora (2016) indica que, con la estrecha base genética de la producción de malanga en Nicaragua, es casi imposible enfrentar los desafíos del cambio climático, a aparición de nuevas plagas y enfermedades, el aumento de la población y la cambiante demanda del mercado internacional. (p. 2).

Según Novak y Brunner (1992) la inducción de mutaciones ha resultado ser un método eficaz para lograr variabilidad genética y puede considerarse una herramienta de gran valor para el mejoramiento de las plantas, ya que ofrece la posibilidad de obtener características deseadas que no se pueden encontrar en la naturaleza o se han perdido durante el proceso evolutivo. Cuando

no se encuentran genes resistentes a una enfermedad en particular o tolerante a los cambios del medio ambiente se puede inducir a mutación.

Molero *et al.*, (2018) indica que la poliploidía puede ser inducida por factores ambientales y productos químicos (p. 101).

Cubero (2003) menciona que la Inducción de poliploidia es un procedimiento que le brinda al fitomejorador la oportunidad de modificar una planta alterando el número de cromosomas y, en consecuencia, la proporción de genes alélicos que contribuyen al apareamiento de caracteres particulares. (p. 326).

Ramírez *et al.* (2013) refieren que los poliploides toleran mejor los ambientes más secos que el diploide debido a cambios en su fisiología que resulta del incremento en el tamaño celular. Diversas investigaciones con aplicaciones de colchicina en diferentes cultivos obteniendo poliploides con cambios morfológicos y citológicos significativos (p.17). De acuerdo con Pierce (2006) el aumento en el tamaño y masa celular forma parte del efecto inmediato y universal de la reacción de poliploidia en plantas. Según Alcántar (2014) las plantas poliploides poseen una capacidad fisiológica superior (por ejemplo, mayor resistencia a efectos climáticos adversos) que sus contrapartes diploides. (p. 27).

De acuerdo con Alcántar (2014) y Molero *et al.* (2018), los poliploides son capaces de tolerar y poblar ambientes más extremos que sus contrapartes diploides debido a cambios en su fisiología que resultan del incremento en el tamaño celular y/o del incremento en el buffer genético provisto por el hecho de poseer copias extras del juego de cromosomas.

En la búsqueda de nuevas fuentes de variabilidad genética que posibiliten el incremento para el desarrollo del cultivo de malanga se realizó este estudio con el objetivo de evaluar el efecto de dos cultivares de malanga, expuesta a diferentes concentraciones de colchicina.



## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la aplicación de colchicina *in vitro* sobre la morfología y citología en dos cultivares de malanga (*Colocasia esculenta* Schott.).

### 2.1. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de diferentes dosis de colchicina sobre la morfología de los cultivares malanga Lila y malanga Blanca a nivel *in vitro* y en invernadero.
- Evaluar el efecto de diferentes dosis de colchicina sobre la citología de los cultivares malanga Lila y malanga Blanca.

### III. MARCO DE REFERENCIA

#### 3.1. Colchicina

Dermen (1940) indica que la colchicina ( $C_{22}H_{25}O_6N$ ), “es un alcaloide, extraído de semillas o cormos del azafrán del otoño (*Colchicum autumnale*) que impide que se llegue a producir la mitosis normal al momento de anular la formación del uso acromático, que es básico en la separación de las cromátidas hermanas en anafase, así mismo el tabique celular que se debería de producir dos hijas de la célula inicial del proceso” (p. 599). Imery *et al.* (2001) menciona que el agente inductor de la duplicación no solo depende del efecto sobre el tejido meristemático, sino también la concentración empleada y el tiempo de penetración en el tejido. (p. 30).

“La duplicación de cromosomas o la poliploidía, es un fenómeno que se asocia con un agrandamiento de los órganos (flores y hojas), una intensificación de los colores, plantas más resistentes y más robustas, un follaje más grueso y más rígido, un aumento aparente en la tolerancia a diferentes estreses, y la resistencia a enfermedades y plagas” (PETIT y Callaway, 2000, p 49-73).

Tambong *et al.* (1998) en un estudio realizado en quequisque (*Xanthosoma sagittifolium*) mencionan que: “las plantas no tratadas con colchicina mostraron el cromosoma  $2n=26$  mientras las plantas con colchicina revelaron el tetraploide ( $4n=52$ ) y el octaploide ( $8n=104$ ). Todas las plantas expuestas a colchicina mostraron un aumento en el número de cromosomas” (p. 196).

#### 3.2. Cultivo *in vitro*

Pérez (1998), menciona:

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro* ha merecido especial atención: Debido a que comprende un grupo heterogéneo de técnicas que permiten el cultivo en condiciones asépticas de órganos, tejidos o células en un medio de composición química definida e incubados en condiciones ambientales controladas (p 28).

Según Castillo (2004), el cultivo *in vitro* de plantas es una técnica que exige un control específico: Del ambiente, tanto físico como químico, en el que se sitúa al explante. El cultivo de meristemas ha sido utilizado con éxito para distintos objetivos, entre ellos la rápida clonación de material deseable, la conservación de germoplasma a bajas

temperatura y la obtención de plantas libres de patógenos sistémicos, entre ellos los virus. (p, 45-46).

Cabrera, *et al.* (2010), “menciona el principal beneficio del cultivo *in vitro* de malanga es la producción de plántulas libres del virus del mosaico de la malanga, este virus es el más difundido en el cultivo de las aráceas” (p, 195-196).

### **3.3. Cultivo de malanga**

El género *Colocasia* es originario del sureste de Asia, entre la India e Indonesia, se afirma que está entre los primeros cultivos explotados por el hombre y su historia es posible trazarla hasta las culturas neolíticas más primitivas (Montaldo, 1972; Quintero *et al.*, 2005). Según el (Ministerio de la agricultura, MINAG 2011), el cultivo se extendió por África tropical y Egipto, llegó a Islas Canaria y desde este archipiélago se introdujo en el continente americano. (p 1-3).

### **3.4. Morfología y anatomía de la malanga**

“La malanga es una planta herbácea que crece a una altura de 1-2 m. La planta consiste en un cormo central (que se encuentra justo debajo de la superficie del suelo) del cual crecen las hojas hacia arriba, las raíces crecido hacia abajo, mientras que cormelos, hijas y corredores (estolones) crecen lateralmente. Es una planta esencialmente tropical. Se cultiva en alturas bajas a medianas sin sobrepasar los 1,000 metros sobre el nivel del mar. Las temperaturas son de clima caliente, preferiblemente entre 25-30 ° C, alta luminosidad y con precipitaciones entre 1,800-2,500 mm al año, aunque puede soportar algunos periodos de sequía,” (ADDAC, 2009, p 4).

Según Mazariegos *et al.* (2017)

la malanga prospera en suelos arcillosos, pero si no hay: Disponibilidad de agua la cosecha se dificulta; tolera inundaciones, puede sobrevivir hasta tres días bajo el agua; en la siembra pueden emplearse los cormos o las plántulas nuevas (hijuelos), los cormos para la siembra se deben sumergir en una solución fungicida (p. 76).

Arróliga y Blandón (2015) mencionan que

El sistema de raíces es fibroso y se encuentra: Principalmente en el primer metro del suelo. En los tipos dasheen de la malanga, el cormo es cilíndrico y grande. Es hasta 30 cm de largo y 15 cm de diámetro, y constituye la parte comestible principal de la planta. El cormo es pequeño, globoide y rodeado de varios cormelos (tubérculos de tallo)

y cormos. Los cormelos y los cormos hijos juntos constituyen una proporción de la cosecha comestible en la malanga (p. 80-81).

### **3.5. Ciclo de crecimiento de la malanga**

De acuerdo con Zapata y Velásquez (2013) “la formación del corno comienza aproximadamente a los tres meses después de la siembra; la formación sigue poco después en cultivares que producen cormelos apreciables. Por el sexto mes, cuando disminuye el crecimiento de los brotes, el corno y los cormelos se convierten en el sumidero principal y crecen muy rápido. A medida que comienza la temporada adversa (seca), el declive de la sesión acelera, hasta que el disparo finalmente muere. El corno y los cormelos permiten que la planta pueda sobrevivir a través de la temporada adversa” (p. 11-12). Si no se cosechan, brotarán y dará subir a nuevas plantas en el inicio de la próxima temporada favorable. (INC, 2004, p. 3).

### **3.6. Enfermedades de la malanga**

El cultivo de la malanga facilita la diseminación de plagas y enfermedades que son esparcidas en las nuevas áreas de producción a través del material de siembra. Quintero (2004). *Phytophthora colocasiae* es un patógeno significativo que causa el tizón de la hoja de la malanga. El patógeno causa manchas circulares, empapadas en agua, necróticas en las hojas, seguido por el colapso de la planta.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Ubicación del estudio

El estudio se realizó en el año 2019 en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales y en invernadero de la Universidad Nacional Agraria, área del Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN) ubicado en el km 12 ½ carretera norte Managua, 12° 08'36" latitud norte y a los 86° 09' 49" longitud oeste a 56 m de altitud.

### 4.2. Diseño metodológico

Se estableció un diseño completamente al azar (DCA), con dos factores (dosis de colchicina y cultivares). Los tratamientos fueron las dosis de colchicina y se utilizaron 20 observaciones por tratamiento.

#### 4.2.1. Origen del material vegetal

Se utilizaron plantas *in vitro* de malanga establecidas en el laboratorio de cultivo de tejidos que fueron colectadas en Matagalpa y Boaco.

#### 4.2.2. Inducción con colchicina

Se utilizaron 100 vitroplantas de cada cultivar (Blanco y Lila) y se realizó la inducción empleando colchicina, cada tratamiento estaba compuesto por 20 vitroplantas. Los tratamientos y dosis empleadas de colchicina se determinaron a partir de los estudios realizados por Guatemala (2015), Tambong *et al.* (1998) y Oumar *et al.* (2011) (Cuadro 1)

Cuadro 1. Dosis de colchicina utilizadas en plantas *in vitro* de malanga Blanca y Lila en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad Nacional Agraria, 2019

<b>Tratamientos</b>	<b>Dosis de inducción (mg l<sup>-1</sup> de Colchicina)</b>
T0 (Testigo)	0
T10	10
T20	20
T40	40
T60	60

Las vitroplantas de malanga permanecieron en el medio MS (Muranshige y Skoog, 1962) con las respectivas dosis de colchicina durante 10 días, luego se transfirieron a un nuevo medio MS simple sin reguladores de crecimiento por 36 días y se trasladaron a un medio de enraizamiento

MS + 1 mg l<sup>-1</sup> AIA (Ácido Indol Acético) para el desarrollo de raíces y producción de plantas independientes, donde pasaron un periodo de 67 días en el cuarto de crecimiento (Anexo 1).

#### **4.2.3. Aclimatización**

A los 103 días después de la aplicación de colchicina (ddac), cuando las vitroplantas alcanzaron una altura aproximada de 8 cm y con suficientes raíces se establecieron en el invernadero en bolsas de polietileno utilizando una mezcla de tierra con sustrato inerte KeKKila<sup>®</sup> en proporción 2:1. El riego se realizó manual tres veces por semana (Anexo 2).

#### **4.3. Variables evaluadas**

##### **4.3.1. Variables morfológicas *in vitro***

Las variables morfológicas se evaluaron a los 23 y 36 ddac y se describen a continuación:

**Altura de la planta (cm):** Medida a partir de la base del pseudotallo hasta la inserción del pecíolo de la hoja de mayor altura.

**Número de hojas:** Conteo de hojas verdes totales presentes en la plántula.

**Número de raíces:** Conteo visual a raíces principales o primarias

**Número de brotes:** Se contabilizó de manera visual los brotes que crecieron a partir de la plántula principal

**Porcentaje de sobrevivencia:** se contabilizaron las plantas vivas a los 67 ddac y se determinó la sobrevivencia a partir de las 20 vitroplantas establecidas inicialmente

##### **4.3.2 Variables morfológicas en invernadero**

Las variables se evaluaron en la fase de aclimatización a los 72 días después del trasplante (ddt) fueron:

**Altura de la planta (cm):** Medida a partir de la base del pseudotallo hasta la inserción del pecíolo de la hoja de mayor altura

**Número de hojas:** Conteo de hojas verdes totales presentes en la plántula

**Área foliar (cm<sup>2</sup>):** Se midió el largo de la hoja (LH, desde el punto de inserción del pecíolo de la hoja hasta la punta de la hoja) y el ancho de la hoja (AH, desde el punto de inserción del pecíolo de la hoja). Y se utilizó la fórmula: (LH\*AH) 0.923 (Aagueguia, 1993).

***Diámetro del pseudotallo (cm):*** Se midió de manera horizontal con una regla en la base de la planta.

***Porcentaje de sobrevivencia:*** se contabilizaron las plantas vivas a los 72 ddt y se determinó la sobrevivencia a partir de las 20 vitroplantas establecidas inicialmente.

#### **4.3.3. Evaluación de variables citológicas**

La evaluación se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Agraria, las variables se evaluaron a los 110 ddt para el cultivar Lila y a los 116 ddt para el cultivar Blanco.

***Número de estomas por cm<sup>2</sup>:*** Se realizó el conteo de las estomas presentes en el haz de la hoja con ayuda de un contador manual de células.

***Largo de estoma:*** Medido verticalmente al ostiolo. Se seleccionaron una cantidad de estomas al azar y se midieron con un micrómetro colocado en el microscopio.

***Número de cloroplastos en células oclusivas del estoma:*** Se realizó un conteo visual de los cloroplastos presentes en los estomas.

***Procedimiento para el conteo y medición de estomas y cloroplastos:*** Se cortaron cinco hojas al azar por tratamiento (1 hoja por planta) y fueron trasladadas al laboratorio, se dividió la hoja en tres secciones; base, medio y ápice se tomaron en cada sección 1 cm<sup>2</sup> de hoja (15 muestras por tratamiento). Se sumergieron por 1 hora en yoduro de potasio (KI) en ambiente oscuro, y por último se colocaron en porta-objetos donde se realizó el conteo visual y medición en el microscopio en un lente objetivo de 20X. (Anexo 3)

Se calibró el microscopio para medir el largo de los estomas según la metodología de Gutiérrez (2012), con el micrómetro objetivo y el micrómetro ocular, se consideró las escalas de ambos micrómetros para contabilizar cuantas escalas del ocular coinciden con las del objetivo y obtener el factor de corrección para determinar el largo de los estomas.

#### 4.4. Análisis estadístico

A las variables morfológicas *in vitro* (Altura de planta, número de hojas y raíces) y citológicas: (número de estomas por cm<sup>2</sup>, tamaño del estoma y número de cloroplastos presentes en células oclusivas) se les realizó el análisis de varianza (ANDEVA) con separación de medias según Tukey al 95% de confianza.

A las variables morfológicas en invernadero (Altura de planta, número de hojas, área foliar y diámetro de pseudotallo) se les realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal Wallis por no cumplir con la normalidad de los residuos en la prueba de Shapiro Wilks ni la homogeneidad de la varianza en la prueba de Levene

El modelo aditivo lineal utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = La k-ésima observación del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Estima a la media poblacional

$\alpha_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de las dosis

$\beta_j$  = Efecto debido al j-ésimo nivel de los cultivares

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de interacción entre dosis y cultivares

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto aleatorio de variación



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Variables morfológicas en etapa *in vitro*

Malanga Lila registró diferencias significativas entre los tratamientos en altura de planta, número de hojas y raíces en ambas evaluaciones. En altura de planta los tratamientos T0 y T10 fueron superiores estadísticamente en las dos evaluaciones. En número de hojas los tratamientos T0, T10, T20 y T40 fueron superiores en la primera evaluación y T0, T10 y T20 en la segunda evaluación. En número de raíces los tratamientos T0 y T10 fueron superiores en la primera evaluación y T10 en la segunda evaluación (Cuadro 2.)

Cuadro 2. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de altura de planta, número de hojas y número de raíces evaluadas a los 23 y 36 días después de la aplicación de colchicina en vitroplantas de malanga Lila, 2019

Tratamientos	Altura de planta (cm)		Número de hojas		Número de raíces	
	23	36	23	36	23	36
T0	7.63 a	7.46 a	3.15 a	3.45 a	6.85 a	6.45 ab
T10	7.29 a	7.50 a	3.35 a	3.80 a	7.50 a	6.90 a
T20	3.67 b	4.16 b	3.30 a	2.82 a	4.82 ab	4.43 b
T40	1.39 bc	1.25 c	2.53 a	1.73 b	1.73 b	1.00 c
T60	0.75 c	1.13 c	1.20 b	1.00 b	3.00 b	0.00 c
R <sup>2</sup>	0.85	0.83	0.76	0.83	0.68	0.88
p-valor ( $\alpha < 0.05$ )	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
CV	32.48	32.1	18.89	19.68	34.92	29.29

R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación/ medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

En Malanga Blanca hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos en todas las variables en las dos evaluaciones realizadas. En altura de la planta, número de hojas y raíces, los tratamientos T0, T10 y T20 fueron superiores estadísticamente a los demás tratamientos en ambas evaluaciones (Cuadro 3)

Cuadro 3. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de altura de planta, número de hojas y número de raíces evaluadas a los 23 y 36 días después de la aplicación de colchicina en vitroplantas de malanga Blanca, 2019

Tratamientos	Altura de la planta (cm)		Número de hojas		Número de raíces	
	23	36	23	36	23	36
T0	4.99 a	4.64 a	2.9 a	3.4 a	4.2 a	4.05 a
T10	5.09 a	4.72 a	2.98 a	3.2 a	3.77 a	4.25 a
T20	4.31 a	4.06 a	3.09 a	3.37 a	3.48 a	3.73 a
T40	1.64 b	1.85 b	1.7 b	2.12 b	1.92 b	1.83 b
T60	0.99 b	1.1 b	1.33 b	1.5 b	1.6 b	1.03 b
R <sup>2</sup>	0.87	0.82	0.63	0.78	0.78	0.83
p-valor ( $\alpha < 0.05$ )	0.0001	0.0001	0.0003	0.0001	0.0001	0.0001
CV	21.98	24.21	26.68	16.67	20.68	22.1

R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación

En el factor cultivar hubo diferencias significativas en las variables altura de la planta y número de raíces, en ambas el cultivar Blanco fue superior al cultivar Lila, en la variable número de hojas no hubo diferencia significativa. En el factor tratamientos hubo diferencia significativa en las variables estudiadas. Hubo efecto en la interacción Cul\*Trat en las variables altura de la planta y número de raíces, el cultivar Blanco registró mayor altura en los tratamientos T0 y T10 (Cuadro 4 y anexo 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza p valor ( $\alpha < 0.05$ ) por los factores cultivar, tratamiento e interacción cultivar-tratamiento (Cul\*Trat) de las variables altura de planta, número de hojas y raíces evaluadas a los 36 días después de la aplicación de colchicina a vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019

Factores	Altura de planta	Número de hojas	Número de raíces
Cultivar	0.0033	0.2661	0.0058
Tratamiento	0.0001	0.0001	0.0001
Cul*Trat	0.0002	0.0612	0.0001
R <sup>2</sup>	0.84	0.81	0.87
CV	29.77	18.15	27.02

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación; CV: Coeficiente de variación

Amador (2019) resalta que en *Xanthosoma* spp. los tratamientos sin colchicina y con 10 mg l<sup>-1</sup> de colchicina mostraron mayor crecimiento en las variables altura de planta y número de hojas y raíces (p.8).

Guatemala (2015) señala que en *X. violaceum* las plantas de los tratamientos testigo, 6.25 y 12.5 mg l<sup>-1</sup> obtuvieron el mismo comportamiento, a menor concentración las plantas presentaron mayor crecimiento tal como se muestra en este estudio donde los tratamientos T0 y T10 fueron superiores en altura de planta, número de hojas y raíces a los tratamientos T20, T40 y T60.

Matos (2014) señala que plantas de *Aloe vera* (L.) expuestas a colchicina durante 48 h con una concentración de 0.10%, presentaron mayor desarrollo en las variables altura de las plantas, longitud de las hojas y volumen foliar de los hijuelos, al compararlo con las plantas a las que no se les aplicó colchicina ó con las del resto de los tratamientos de 24 y 48 horas tratados con concentraciones de 0.05% y 0.10% (p. 385).

Se ha comprobado que altas concentraciones de colchicina superiores al 0.1% y el mayor tiempo de exposición pueden generar efectos de toxicidad, esto se refleja en los estudios de Cavalcanti (2011) en *Heliconia bihai*, y Molero *et al.*, (2018) en *Aloe vera* (L), donde se presentaron perturbaciones fisiológicas en las células de las plantas en concentraciones de 0.15% por 3 días.

Condori (2016) en su estudio de *P. peruviana* describe que la altura de los brotes tratados con colchicina en cultivo *in vitro* son afectados significativamente por el tiempo de exposición y la concentración de la colchicina, tal efecto es inversamente proporcional, dado que a mayor tiempo de exposición y a mayor concentración de la colchicina la altura del brote disminuye (p.51) lo que se observó en este estudio fue un comportamiento similar en las variables evaluadas, a mayor concentración de colchicina los valores de las variables disminuyeron.

## **5.2. Variables morfológicas en invernadero**

El cultivar Lila presentó diferencias estadísticas significativa entre los tratamientos, en la variable altura de planta, donde los tratamientos T0 y T20 fueron estadísticamente superior. En las variables número de hojas, área foliar y diámetro de pseudotallo no hubo diferencia significativa (Cuadro 5)

Cuadro 5. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis medias y categorías estadísticas de altura de planta (cm), número de hojas, área foliar (cm<sup>2</sup>) y diámetro de pseudotallo (cm) evaluadas a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila establecidas en invernadero, 2019

<b>Tratamientos</b>	<b>Altura de planta (cm)</b>	<b>Número de hojas</b>	<b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Diámetro de pseudotallo (cm)</b>
T0	28.27 a	2.86 a	64.02 a	0.79 a
T10	24.93 b	3.38 a	63.58 a	0.81 a
T20	25.61 ab	2.94 a	64.02 a	0.82 a
T40	20.02 bc	2.82 a	51.37 a	0.74 a
T60	10.27 c	2.50 a	30.78 a	0.60 a
p valor ( $\alpha < 0.05$ )	0.0001	0.1513	0.0988	0.1506

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

En el cultivar Blanco, hubo diferencia significativa entre los tratamientos en las variables altura de planta y área foliar. En la variable altura de planta los tratamientos T0, T10 y T40 fueron superiores. Para la variable área foliar el tratamiento T60 fue inferior. No hubo diferencias significativas en número de hojas y diámetro de pseudotallo (Cuadro 6.).

Cuadro 6. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis, medias y categorías estadísticas de altura de planta (cm), número de hojas, área foliar (cm<sup>2</sup>) y diámetro de pseudotallo (cm) evaluadas a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Blanca establecidas en el invernadero, 2019

<b>Tratamientos</b>	<b>Altura de la planta (cm)</b>	<b>Número de hojas</b>	<b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Diámetro de pseudotallo (cm)</b>
T0	32.44 a	2.38 a	92.49 a	0.77 a
T10	32.26 a	3.00 a	78.69 ab	0.75 a
T20	26.59 b	2.62 a	73.84 ab	0.77 a
T40	31.85 a	2.55 a	85.17 a	0.80 a
T60	24.09 b	2.74 a	61.66 b	0.74 a
p valor ( $\alpha < 0.05$ )	0.0001	0.0736	0.0333	0.6036

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

En el factor cultivar hubo diferencia significativa en las variables altura de planta y área foliar donde el cultivar Blanco fue superior, en las variables número de hojas y diámetro del pseudotallo no hubo diferencia significativa. En el factor tratamiento las variables altura de planta y diámetro de pseudotallo hubo diferencias significativas. En la interacción Cul\*Trat, la variable altura de la planta, presentó diferencia significativa, no hubo diferencia significativa en número de hojas, área foliar y diámetro de pseudotallo (Cuadro 7 y anexo 5).

Cuadro 7. p valor ( $\alpha < 0.05$ ) del análisis de varianza por cultivar, tratamiento e interacción cultivar-tratamiento en las variables altura de planta, número de hojas, área foliar y diámetro del pseudotallo evaluadas en el invernadero a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019

Factores	Altura de planta	Número de hojas	Área foliar	Diámetro del pseudotallo
Cultivar	<0.0001	0.0965	0.0001	0.3057
Tratamiento	<0.0002	0.0986	0.0902	0.0375
Cul*Trat	0.0032	0.8102	0.1175	0.0905
CV	13.21	13.31	19.35	11.16
R <sup>2</sup>	0.86	0.41	0.77	0.49

El porcentaje de sobrevivencia *in vitro* a los 36 dda en el cultivar Lila fue entre 20-100% y a los 72 ddt en invernadero entre 30-100%. Para el cultivar Blanco a los 36 ddi *in vitro* se registró un 60-100% y a los 72 ddt en invernadero un 90-100% de sobrevivencia. Los tratamientos T0 y T10 tuvieron mayor sobrevivencia en los cultivares Lila y Blanco (Figura 1).

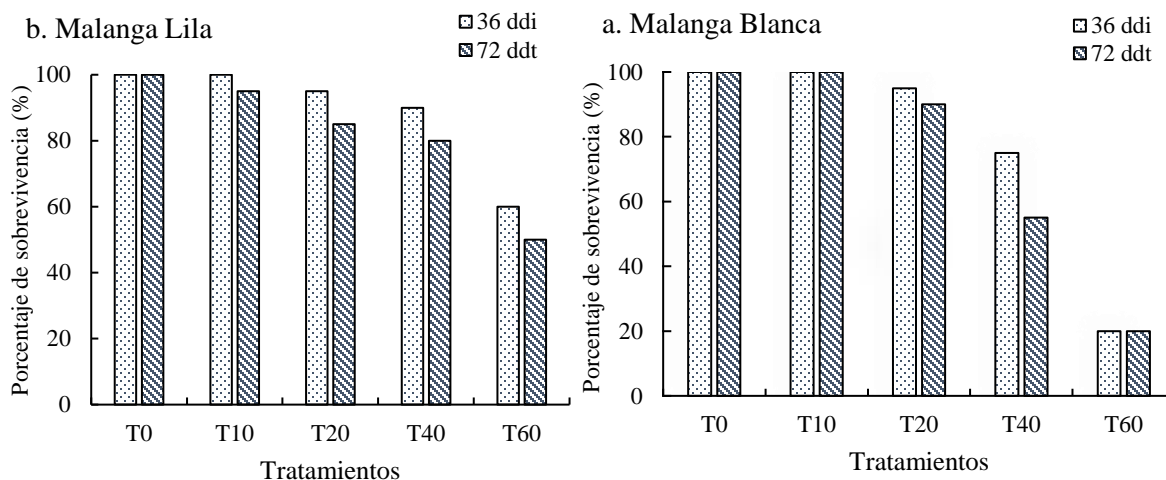


Figura 1. Porcentaje de sobrevivencia *in vitro* (36 días después de la aplicación) y en invernadero (72 días después del trasplante) de plantas *in vitro* de los tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60 en a. malanga Blanca y b. malanga Lila.

Condori (2016) menciona que la relación que existe entre las concentraciones de colchicina y la tasa de mortalidad de las plantas, generalmente ha sido registrada como inversamente proporcional. Lo mismo se observó en este estudio, a mayor concentración de colchicina aumentó la tasa de mortalidad para ambos cultivares.

Amador (2019) en su evaluación de dos especies de *Xanthosomas* spp. encontró que las inducciones con mayor concentración de colchicina 20, 40 y 60 mg l<sup>-1</sup>, presentaron mayor efecto sobre la mortalidad de plantas, registró tasa de sobrevivencia entre 15-70% *in vitro* y entre 10-50 % en invernadero para ambas especies.

Según Yang *et al.* (2006) un efecto de la colchicina es el bajo porcentaje de sobrevivencia en las plántulas tratadas. Marzougui, *et al.* (2011) y Barboza (2015), indican que plantas con un alto nivel de ploidia, pueden presentar anomalías como enanismo, follaje arrugado y plantas débiles. Según Barrera (2010) la colchicina provoca bajo porcentaje de sobrevivencia de plántulas tratadas, así como el efecto morfológico de presentar hojas más gruesas y verdes (mayor área foliar), disminución de la altura de la planta, e incremento en el tamaño de la flor y tamaño de semilla (p. 14).

### **5.3. Variables Citológicas**

El cultivar Lila presentó cuatro categorías estadísticas en el número de estomas por cm<sup>2</sup>, el testigo T0 fue superior estadísticamente en número de estomas por cm<sup>2</sup>. En número de cloroplastos por estomas el tratamiento T20 fue estadísticamente inferior a los demás tratamientos. En largo de estomas el tratamiento T60 fue estadísticamente superior a los demás tratamientos (Cuadro 8, Figura 2).

El tratamiento T60 registró mayor número de cloroplastos y estomas más largos en comparación a los demás tratamientos.

Cuadro 8. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de variables citológicas (número de estomas por cm<sup>2</sup>, número de cloroplastos por estomas y largo de estomas (μm) evaluadas a los 110 días después del trasplante en el cultivar Lila

Tratamientos	Número de estomas por (cm <sup>2</sup> )	Número de cloroplastos por estomas	Largo de estomas (μm)
T0	1795.60 a	13.68 ab	23.67 b
T10	1682.87 b	13.52 abc	23.53 b
T20	1653.93 b	11.48 c	22.87 b
T40	1548.73 c	12.42 bc	21.80 b
T60	1376.00 d	15.33 a	28.83 a
R <sup>2</sup>	0.89	0.64	0.45
p-valor (α <0.05)	0.0001	0.0011	0.0299
CV	2.83	7.38	9.78

R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación.

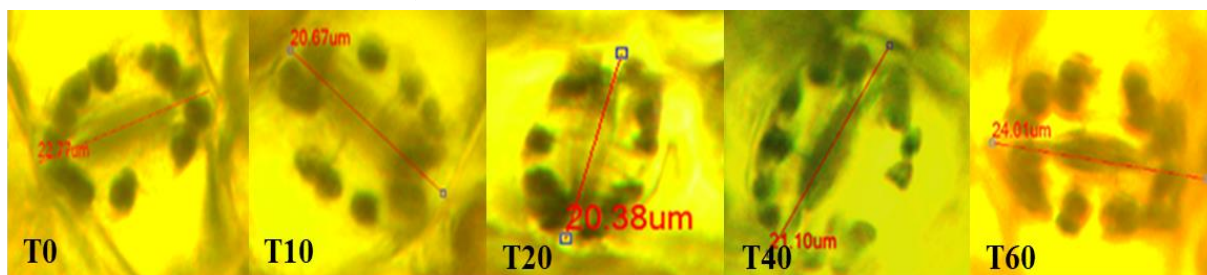


Figura 2. Largo de estomas y número de cloroplastos por estoma de los tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60 de malanga Lila evaluadas a los 110 días después de la aplicación de colchicina. En malanga Blanca el testigo T0 y T10 fue estadísticamente superior en número de estomas por cm<sup>2</sup>. En número de cloroplastos por estomas el testigo T0 y el tratamiento T60 fueron estadísticamente superior a los demás tratamientos en el largo de estomas el T60 fue estadísticamente superior a los demás tratamientos (Cuadro 9. Figura 3). No se registraron datos en T40 porque las macetas que contenían las plantas fueron sustraídas del lugar del ensayo antes de realizar la evaluación citológica.

Cuadro 9. Análisis de varianza, medias y categorías estadísticas según Tukey de variables citológicas (número de estomas por cm<sup>2</sup>, número de cloroplastos por estomas y largo de estomas (µm) evaluadas a los 116 días después del trasplante en cultivar Blanco

Tratamientos	Número de estomas por cm <sup>2</sup>	Número de cloroplastos por estoma	Largo de estomas (µm)
T0	1781.07 a	25.12 a	26.13 b
T10	1672.53 a	15.73 b	26.87 b
T20	1547.8 b	16.38 b	26.4 b
T60	1273 c	26.5 a	36 a
R <sup>2</sup>	0.92	0.75	0.61
p-valor ( $\alpha < 0.05$ )	0.0001	0.0006	0.0009
CV	2.76	15.34	8.01

R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación

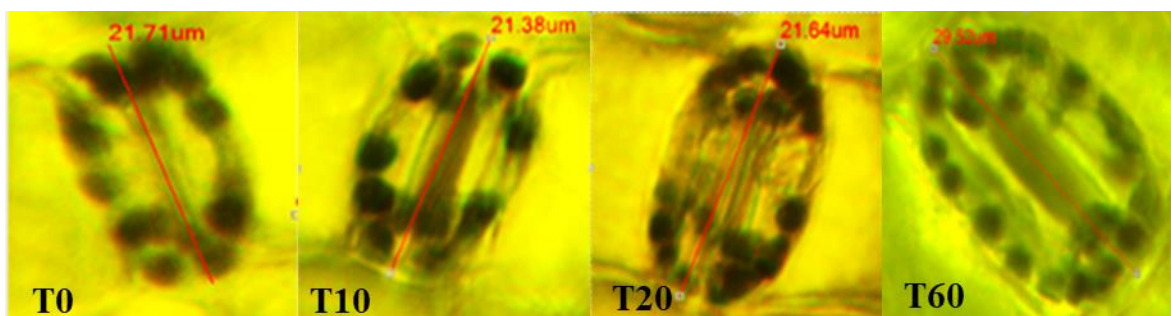


Figura 3. Largo de estomas y número de cloroplastos por estoma de los tratamientos T0, T10, T20 y T60 de malanga Blanca evaluadas a los 110 días después de la aplicación de colchicina.

En número de estomas por cm<sup>2</sup> hubo un comportamiento similar en malanga Lila y Blanca, a mayor concentración de colchicina se redujo el número de estomas. El Largo de estomas por el contrario registró una mayor longitud a mayor concentración de colchicina y se registraron mayor número de cloroplastos por estoma.

De acuerdo a Cao *et al* (2018) la poliploidización incrementa el tamaño de los estomas pero reduce la densidad de los estomas en muchas especies y adicionalmente el número de cloroplastos, esto se registró en crisantemo (Dong *et al.* (2017)), *Spathiphyllum wallisii* (Laere *et al.* (2011)) y lirio (Zhang *et al.* (2017)).

Cao et al (2018) menciona que la capacidad fotosintética está relacionada a las características celulares afectadas por la poliploidización incluido el grosor de la hoja, tamaño de estomas, número y estructura de los cloroplastos entre otras.



Según Amador (2019) las plantas de *Xanthosomas* spp. tratadas con mayor concentración de colchicina presentaron una reducción en el número de estomas, un mayor alargamiento de los mismos, y un mayor número de cloroplastos. Salazar *et al.* (2018) indican que en las concentraciones de 0.025 y 0.10% de colchicina suministrada a plantas de *K. daigremontiana* por 24 y 48 h presentaron como resultado estomas más grandes y mayor número de cloroplastos en comparación al testigo. Los resultados encontrados en ambos estudios coinciden con los resultados presentes en este estudio, mayor número de cloroplastos, mayor alargamiento de estomas, y una reducción del número de estomas a mayor concentración de colchicina.

Kulkarni & Borse (2010) formaron tetraploides en *Capsicum annuum* con diferentes concentraciones de colchicina (0.05%, 0.1%, 0.2% y 0.4%), en su investigación estas plantas presentaron mayor longitud de estomas (48,6%), menor frecuencia de estomas por milímetro cuadrado (41,7%) y un mayor número de cloroplastos en células guarda (47,3%) que su diploide (p.40).

Guatemala (2015) registró mayor número de estomas, con menor longitud de los mismos en su evaluación de las variables citológicas en plantas *X. violaceum* testigo, lo que permite determinar que a menor nivel de concentración de colchicina los estomas se encontraran en mayor cantidad, pero su longitud será menor.

Según Barrera (2010) entre los efectos comunes de la colchicina en las plantas se encuentra la disminución en la frecuencia de estomas, esto varía de acuerdo con la sensibilidad de la planta a la colchicina, pues la variación en el tiempo de exposición a esta sustancia interfiere en gran medida en la mayor o menor concentración de cromosomas. Ramírez *et al.*, (2013) encontró que los autotetraploides de *Physalis ixocarpa* presentaron estomas más grandes, pero en menor cantidad por superficie foliar, en comparación con los diploides, por lo que el tamaño estomático es proporcional al nivel de ploidía, y la densidad estomática es inversamente proporcional al nivel de ploidia (p.16).

Gantait *et al.*, (2011) indican que la densidad estomática se verá generalmente afectada en menor proporción por la inducción de ploidia. (p.487). Esto mismo ha sido determinado en las observaciones por los estudios de inducción de ploidia (Xu *et al.*, 2016). La densidad estomática puede manifestarse como indicador en los niveles de ploidia en las plantas (Gomes *et al.*, 2014).

Cao *et al.* (2018) en su evaluación morfológica de híbridos de *Lilium FO* describe como la poliploidización ocasionó cambios significativos dentro de la morfología de las hojas, observando un tejido epidérmico más esponjoso y más grueso.

Sadat *et al.* (2017) y Tambong *et al.* (1998) mencionan que las modificaciones de los niveles de ploidía presentan una relación con los estomas; si se modifica el número de juegos de cromosomas, estos pueden modificar las características como el largo y ancho de los estomas y la densidad estomática de manera positiva o negativa, así como la cantidad de cloroplastos que presentan las células guardas de los estomas.

En este estudio no se logró contabilizar el número de cromosomas para determinar si hubo un cambio del nivel de ploidía en las plantas tratadas con las diferentes dosis de colchicina, en las variables citológicas se registraron diferencias entre las plantas tratadas con colchicina con respecto a las plantas testigo, lo que podría indicar un cambio en el nivel de ploidía de las mismas, según lo reportado por algunos autores (Sadat *et al.* (2017); Gomes *et al.* (2014); Ramírez *et al.* (2013); Gantait *et al.* (2011); Tambong *et al.* (1998)) donde indican que cambios en el nivel de ploidia se refleja en la densidad de estomas y tamaño.

Los cambios morfológicos y citológicos y la tasa de sobrevivencia de las plantas tratadas con dosis más altas de colchicina (40 y 60 mg l<sup>-1</sup>) indican que estas plantas sufrieron modificaciones genéticas a nivel de cromosomas o mutaciones de ploidía que comprenden cambios en el número de cromosomas, Según Nielen *et al.* (2021) el uso de colchicina puede provocar este tipo de mutaciones y pueden ser reflejadas en la altura de planta, cambios en las hojas, tamaño y número de estomas y cloroplastos y puede provocar la mortalidad de algunas plantas (Cao *et al.* (2018); Condori (2016); Amador (2019); Yand *et al.* (2006)).

## VI. CONCLUSIONES

Hubo cambios morfológicos en plantas tratadas con colchicina a nivel *in vitro* e invernadero. A mayor concentración de colchicina las plantas tuvieron menor tamaño, número de hojas y raíces en ambos cultivares.

A nivel citológico, en ambos cultivares la dosis 60 mg l<sup>-1</sup> de colchicina registró mayor número de estomas por cm<sup>2</sup>, hubo un incremento en el tamaño y número de cloroplastos por estoma.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Determinar los niveles de ploidía de las plantas tratadas con colchicina utilizando citometría de flujo y conteo de cromosomas para determinar si se obtuvieron nuevas variantes genéticas.

Evaluar el comportamiento de las plantas tratadas con colchicina en condiciones de campo para determinar sus características productivas, fisiológicas, tolerancia a plagas y enfermedades

## VIII. LITERATURA CITADA

- ADDAC (2009). *Análisis de la Cadena de Valor de Malanga Rancho Grande, Matagalpa, Nicaragua*. [http://addac.org.ni/files/attachments/documentos/Analisis\\_cadena\\_malanga.pdf](http://addac.org.ni/files/attachments/documentos/Analisis_cadena_malanga.pdf)
- Agueguia, A. (1993). Non-Destructive Estimation of Leaf Area in Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* [L.] Schott). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 171(2), 138-141. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1993.tb00123.x>
- Alcántar, J. (2014). La poliploidía y su importancia evolutiva. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 18 (54):235-238. <http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/310>
- Amador Cuadra, C. U. (2019). *Efecto de la aplicación in vitro de colchicina sobre la morfología y citología en dos especies de quequisque (Xanthosoma spp.)*. en Nicaragua [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Agraria.
- Arróliga Araica, L., y Blandón Ruíz, N. (2015). *Evaluación del comportamiento agronómico de ocho variedades de Malanga (Colocasia esculenta) en las condiciones edafoclimáticas, Finca Buena Vista, comunidad El Tepeyac; departamento de Matagalpa, I Semestre 2015 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,].* Archivo digital. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Barboza, R. (2015). *Guía. Tema 3: Elementos que se utilizan en el mejoramiento*. <https://es.scribd.com/document/282151256/MEjoramamiento-Vegetal>
- Barrera, B. A. (2010). *Desarrollo de un protocolo de duplicación cromosómica en híbridos intergenéricos Hellanthus annuus x Tithonia rotundifolia*. MSc. Cie. en fito. México, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Consultado 01 de Oct. 2019. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4011/61694%20B%20arrera%20Romo%2C%20Bricia%20Anayanky.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Cabrera, D., González, J. E., Portal, O., & Hernández, R. (2010). Influencia del virus del mosaico de la malanga sobre el contenido de clorofilas en *Xanthosoma nigrum* (vell.) genotipo inivit m 95-1. *Revista de Protección Vegetal*, 25(3), 194-196. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522010000300008&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522010000300008&script=sci_arttext)
- Cao, Q., Zhang, X., Gao, X., Wang, L., & Jia, G. (2018). Effects of ploidy level on the cellular, photochemical and photosynthetic characteristics in *Lilium* FO hybrids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 133, 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.027a>
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. INIA, Uruguay. <http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Cavalcanti, G. (2011). *Indução de poliploidia in vitro com aplicação de Heliconia bihai* [Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco]. Archivo digital. <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/2117> ..

- Centro de Trámites de las Exportaciones CETREX. (2022).ID (en línea) Nicaragua NI. Consultado 28 Noviembre 2022. [https://www.cetrex.gob.ni/website/servicios/estadisticas\\_2022.jsp](https://www.cetrex.gob.ni/website/servicios/estadisticas_2022.jsp)
- Cubero, J.I. (2003). Introducción a la mejora genética vegetal. 2da edición. Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. ISBN 84-8476-0995. 649 pp.
- Condori, D., (2016). *Determinación de la concentración y tiempo de exposición de la colchicina para la duplicación del número cromosómico de Physalis peruviana L. en condiciones in vitro.* [Tesis doctoral, Universidad Nacional de San Agustín]. Archivo digital. . <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/2376/BIcacodp.pdf>
- Dermen, H. (1940). Colchicine Polyploidy and Technique. *New York Botanical Garden* , 6(11), 599-635. <https://www.jstor.org/stable/4353239>
- Dong, B., Wang, H., Liu, T., Cheng, P., Chen, Y., Chen, S., ... & Chen, F. (2017). Whole genome duplication enhances the photosynthetic capacity of Chrysanthemum nankingense. China. *Molecular Genetics and Genomics*, 292, 1247-1256. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1344-y>
- Enríquez, D., y Mairena, E., (2011). *Efecto de dos condiciones de humedad del suelo y tiempo de cosecha sobre el rendimiento de malanga (Colocasia esculenta (L.) Schott) para exportación. Boaco-Nicaragua 2011.* [Tesis doctoral]. Universidad Nacional Agraria. .
- Gantait, S., Mandal, N., Bhattacharyya, S., & Das, P. K. (2011). Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicine treatment of Gerbera jamesonii Bolus cv. Sciella. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 106, 485-493. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9947-1>
- Gomes, S. S. L., Saldanha, C. W., Neves, C. S., Trevizani, M., Raposo, N. R. B., Notini, M. M., .& Viccini, L. F. (2014). Karyotype, genome size, and in vitro chromosome doubling of Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118, 45-56. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0460->
- Góngora García, K. J. (2016). *Morfología, rendimiento y calidad organoléptica de 25 genotipos introducidos de malanga (Colocasia esculenta (L.) Schott) y seis naturalizados en Nicaragua. San Ramón, Matagalpa, 2015.* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Agraria.
- Guatemala Ortega, T. (2015). *Efecto de la aplicación in vitro de colchicina sobre caracteres morfológicos y citológicos en plantas de quequisque (Xanthosoma violaceum Schott).* En. Nueva Guinea Agrón. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Agraria.
- Gutierrez, Y. (2012). *Módulo práctico técnicas de laboratorio.* Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. 33-35.
- Imery-Buiza, J., & Cequea, H. (2001). Cytogenetic Evaluation of M1V2 Generation from Experimental Tetraploids in Aloe Vera L. *Revista Científica UDO Agrícola*, 1(1), 29-33. <http://www.udoagricola.orgfree.com/>
- INC, C. I. (2004). Proyecto de desarrollo de la cadena de valor y conglomerado agrícola. El cultivo de la malanga coco (*Colocasia esculenta*). Managua, Nicaragua.

- Kulkarni M, & Borse T. (2010). Induced polyploidy with gigas expression for root *traits in Capsicum annuum (L.)*. *Plant Breeding*, 129(4):461–464. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01696>.
- Laere, K., França, S. C., Vansteenkiste, H., Van Huylenbroeck, J., Steppe, K., & Van Labeke, M. C. (2011). Influence of ploidy level on morphology, growth and drought susceptibility in *Spathiphyllum wallisii*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1149-1156. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0643-2>
- López, M; Vázquez, E; y López, R. (1984). *Raíces y tubérculos*. La Habana, CU. Pueblo y Educación.
- Marzougui, N., Boubaya, A., Thabti, I., Elfalleh, W., Guasmi, F., & Ferchichi, A. (2011). Polyploidy induction of Tunisian *Trigonella foenumgraecum* L. populations. *African Journal of Biotechnology*, 10(43), 8570-8577. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2632>
- Matos, A. (2014). Efecto de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de la colchicina en plantas de zábila [*Aloe vera (L.)* Burm. f.] in vivo. *Multiciencias*, 14 (4), 382 – 388. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90433839003>
- Mazariegos, A., Gonzáles, J.M., Milla, A.I., Espinosa, S., Martínez, J. y López, C. (2017), Cultivo de Malanga (*Colocasia esculenta* Schott) en Tuxtla Chico, Chiapas México, *Agroproductividad*,10(3).<https://revistaagroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/973> .
- Milius, S. (2017). Worries grow that climate change will quietly steal nutrients from major food crops. *Science News Year in Review Nutrition, Climate, Sustainability*.
- MINAG. (2011). *Instructivo técnico del cultivo de la malanga*. La Habana, Cuba, pp.1-3.
- Molero, T., Viloria, M., Fernandez, E., ( 2018). Inducción de poliploidía con clochicina en vitroplantas de *Aloe vera (L.)*. *Revista Colombiana. Biotecnol*, XX(1). <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v20n1/0123-3475-biote-20-01-97.pdf>
- Montaldo, A. (1972). *Cultivos de raíces y tubérculos tropicales*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Lima, Perú, 185-189.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nielen, S., Forster, B. P., & Badigannavar, A. (2021). Tipo de mutaciones. En M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, & L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3ra ed., pp. 69–86). FAO y IAEA. <https://doi.org/10.4060/i9285es>
- Novak, F. J., & Brunner, H. (1992). Fitotecnia: Tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos. *Boletín del OIEA*, 4, 24-33. [https://www.iaea.org/sites/default/files/34405682533\\_es.pdf](https://www.iaea.org/sites/default/files/34405682533_es.pdf)
- Oumar, D., Sama, A. E., Adiobo, A., & Zok, S. (2011). Determination of ploidy level by flow cytometry and autopolyploid induction in cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*). *African Journal of Biotechnology*, 10(73), 16491-16494. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2358>
- Pérez Ponce, J.N. (1998). *Propagación y Mejora Genética de plantas por Biotecnología*. Santa Clara, Cuba: Instituto de Biotecnología de las Plantas.

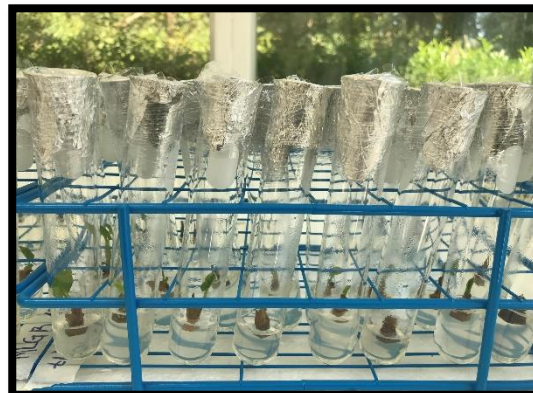
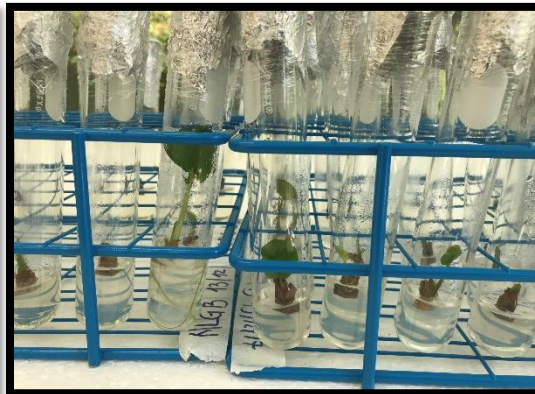
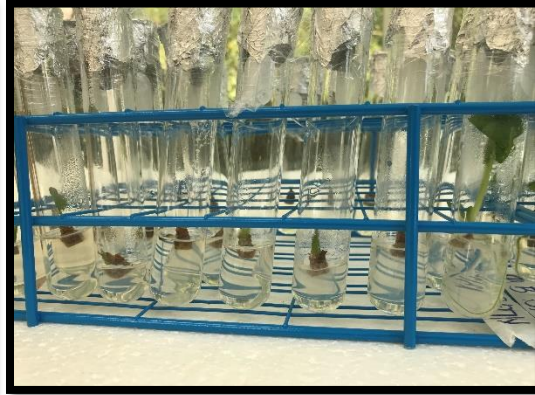
- Petit, T. L., & Callaway, D. J. (2000). Breeding daylilies (Hemerocallis). *Breeding Ornamental Plants*. Timber Press, Portland, OR, USA, 49-73. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20003017205>
- Pierce, BA. 2006. *Genetics: A Conceptual Approach*. 3rd edition. US. W.H. Freeman. 832 p.
- Quintero, S. (2004). Combate del DsMV y producción de “semilla” de malanga (Xanthosoma spp.) de alta calidad. II Convención Internacional de Agricultura Tropical, Memorias CD-R. C6-A168. La Habana, Trópico.
- Quintero, S., Rodríguez, A., & Rodríguez, A. (2005). La producción de “semilla”(Xanthosoma spp.) como medio de combate del virus del mosaico de la malanga (DsMV). *X Jornada Científica del INIFAT, La Habana, Cuba*.
- Ramírez G, F., Robledo T, V., Foroughbakhch P, R., Benavides M, A., & Alvarado V, M. A. (2013). Viabilidad de polen, densidad y tamaño de estomas en autotetraploides y diploides de *Physalis ixocarpa*. *Botanical Sciences*, 91(1), 11-18. <http://www.scielo.org.mx/pdf/bs/v91n1/v91n1a2.pdf>
- Rayas A, Landa R, Lugo Y, Milián M, Albert J. Caracterización citogenética e isoenzimática de 24 clones de malanga (xanthosoma spp.), [cytogenetic and isoenzymatic characterization of dasheen (xanthosoma spp.)]. *Registro Agri2000 Mega Base*. 1997.
- Sadat Noori, S. A., Norouzi, M., Karimzadeh, G., Shirkoob, K., & Niazian, M. (2017). Effect of colchicine-induced polyploidy on morphological characteristics and essential oil composition of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.). *Plant cell, tissue and organ culture (pctoc)*, 130, 543-551. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1245-0>
- Salazar, S; Valderrama, G; Quintero, J.(2018). Efecto de la colchicina sobre la morfología foliar y los estomas de *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier (Crassulaceae). *Revista colombiana de ciencias hortícolas*. 12 (1): 212-222. <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.7059>
- Tambong, J. T., Sapra, V. T., & Garton, S. (1998). In vitro induction of tetraploids in colchicine-treated cocoyam plantlets. *Euphytica*, 104, 191-197. <https://doi.org/10.1023/A:1018609020397>
- Viguera, B., Martínez, M., Donatti, c., Harvey, C., Alpizar, F., (2017). *Impactos del cambio climático en la agricultura de Centroamérica, estrategias de mitigación y adaptación*. Turrialba, Costa Rica. [https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/9476/Impactos\\_del\\_cambio\\_climatico\\_modulo2.pdf?sequence=1](https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/9476/Impactos_del_cambio_climatico_modulo2.pdf?sequence=1)
- Wilson, J. E. (1984). Cocoyam. In: *The Physiology of Tropical Field Crop*. (Eds. P.R. Goldsworthy. & N. M. Fisher). John Wiley and Sons Ltd. New York, London, pp. 589-605.
- Xu, C., Huang, Z., Liao, T., Li, Y., & Kang, X. (2016). In vitro tetraploid plants regeneration from leaf explants of multiple genotypes in *Populus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 125, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0922-0>
- Yang, X. M., Cao, Z. Y., An, L. Z., Wang, Y. M., & Fang, X. W. (2006). In vitro tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica*, 152, 217-224. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9203-7>



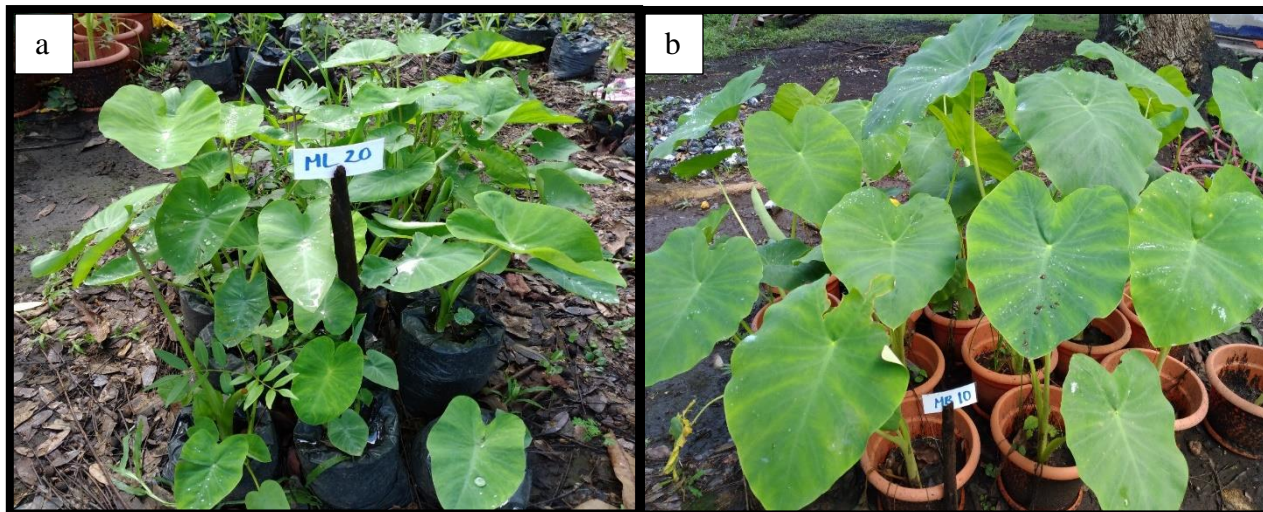
- Zapata, J., & Velásquez, C. (2013). *Estudio de la producción y comercialización de la malanga: estrategias de incentivos para la producción en el país y consumo en la ciudad de Guayaquil* (Tesis de maestría). Universidad Politécnica Salesiana. Archivo digital. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/4331>
- Zhang, X., Cao, Q., & Jia, G. (2017). A protocol for fertility restoration of F 1 hybrid derived from *Lilium* × *formolongi* 'Raizan 3' × Oriental hybrid 'Sorbonne'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 129, 375-386. <https://doi.org10.1007/s11240-017-1184-9>

## IX. ANEXOS

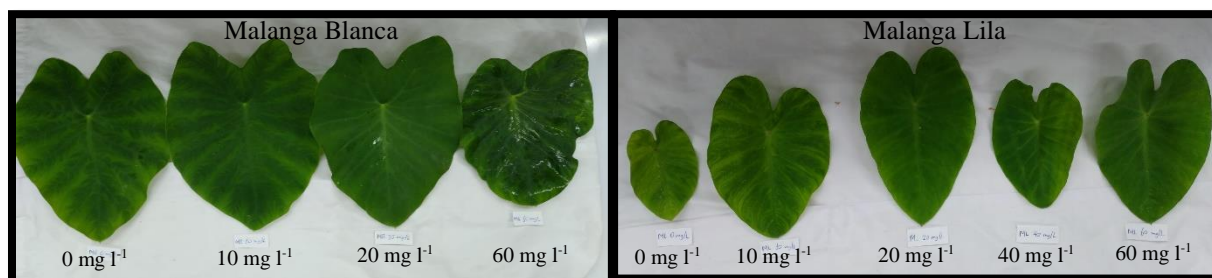
Anexo 1. Vitroplantas de malanga de los cultivares Lila y Blanco evaluadas a los 23 días después de la aplicación de colchicina



Anexo 2. Vitroplantas de malanga (a=cultivar Lila; b=cultivar Blanco) tratadas con colchicina en invernadero a los 50 días después del trasplante



Anexo 3. Hojas de malanga de los cultivares Blanco y Lila tratadas con diferentes concentraciones de colchicina (tratamientos T0, T10, T20, T40 y T60) utilizadas para la evaluación de las variables citológicas



Anexo 4. Separación de medias según Tukey (0.95% de confianza) a los 36 días después de la aplicación de colchicina a vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019

	<b>Altura de la planta (cm)</b>	<b>Número de hojas</b>	<b>Número de raíces</b>
<b>Cultivar</b>			
Lila	4.3 a	2.56 a	3.76 a
Blanca	3.27 b	2.72 a	2.98 b
<b>Tratamiento</b>			
0 mg	6.05 a	3.43 a	5.25 ab
10 mg	6.11 a	3.5 a	5.58 a
20 mg	4.11 b	3.09 a	4.08 b
40 mg	1.55 c	1.93 b	1.42 c
60 mg	1.11 c	1.25 c	0.52 c
<b>Cultivar*tratamiento</b>			
Lila 0 mg	7.46 a	3.45 a	6.45 a
Lila 10 mg	7.5 a	3.8 a	6.9 a
Lila 20 mg	4.16 bc	2.82 ab	4.43 b
Lila 40 mg	1.25 d	1.73 cd	1 d
Lila 60 mg	1.13 d	1 d	0 d
Blanca 0 mg	4.64 b	3.4 a	4.05 b
Blanca 10 mg	4.72 b	3.2 a	4.25 b
Blanca 20 mg	4.06 bc	3.37 a	3.73 bc
Blanca 40 mg	1.85 cd	2.12 bc	1.83 cd
Blanca 60 mg	1.1 d	1.5 cd	1.03 d

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

Anexo 5. Separación de medias según Tukey (0.95% de confianza) de las variables morfológicas en invernadero a los 72 días después del trasplante en vitroplantas de malanga Lila y Blanca, 2019

	<b>Altura de la planta</b>	<b>Área foliar</b>	<b>Diámetro del pseudotallo</b>	<b>Numero de hojas</b>
<b>Cultivar</b>				
Lila	24.26 b	59.5 b	0.78 a	2.99 a
Blanca	29.56 a	79.03 a	0.77 a	2.69 a
<b>Tratamiento</b>				
0 mg	30.41 a	79.20	0.78	79.47 b
10 mg	28.41 ab	70.76	0.78	114.8 a
20 mg	26.14 ab	69.30	0.79	87.76 b
40 mg	27.65 a	73.18	0.78	82.48 b
60 mg	20.77 c	54.25	0.70	85.70 b
<b>Cultivar*tratamiento</b>				
Lila 0 mg	28.27 b	64.02 cd	0.79	2.86 ab
Lila 10 mg	24.93 bc	63.58 cd	0.81	3.38 a
Lila 20 mg	25.61 bc	64.02 cd	0.82	2.94 ab
Lila 40 mg	20.02 cd	55.37 d	0.74	2.82 abc
Lila 60 mg	10.27 d c	30.78 d	0.60	2.50 bc
Blanca 0 mg	32.44 a	92.49 a	0.77	2.38 c
Blanca 10 mg	32.26 a	78.69 ab	0.75	3:00 ab
Blanca 20 mg	26.59 b	73.84 abc	0.77	2.62 bc
Blanca 40 mg	31.85 a	85.17 a	0.80	2.55 bc
Blanca 60 mg	24.09 bc	61.66 bcd	0.74	2.74 bc

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.