Morpho-physiological differences

temporary immersion system



Diferencias morfo-fisiológicas en plántulas de malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) obtenidas en sistema de inmersión temporal

Ana Karen Méndez López, Sonia Ruiz González, Isidro Ovando Medina*

Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula, Chiapas, México.

Resumen

El consumo mundial de la malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) ha tenido auge debido a que es una fuente alimenticia nutritiva y de alta digestibilidad. Los sistemas de inmersión temporal (SIT), permiten la automatización de la etapa de multiplicación *in vitro* disminuyendo los costos de producción y permite que ambas, la morfología y el comportamiento fisiológico de los cultivos sean semejantes a los que presentan las plantas en condiciones *ex vitro*. Con la finalidad de determinar la influencia de las variables frecuencia y tiempo de inmersión sobre el crecimiento de *X. sagittifolium* en los sistemas de inmersión temporal (SIT), se diseñó un experimento factorial 2³, 2 frecuencias de inmersión (12 y 24 h), 2 tiempos de inmersión (15 y 20 min) y 2 volúmenes de medio de cultivo MS (25 y 50 mL). Se evaluaron variables morfológicas sobre el crecimiento de plántulas. A pesar de que se obtuvieron diferencias significativas en número de hoja, peso fresco (mg) a los 21 días, peso fresco (mg) de raíz, peso seco (mg) y número de raíz se considera que ambos volúmenes de medio de cultivo MS aquí evaluados (25 y 50 mL) son adecuados pues permiten reducir la frecuencia de inmersión y modificar el tiempo de inmersión.

Palabras clave:

Crecimiento vegetal Frecuencia de inmersión Organogénesis Tiempo de contacto Volumen de medio

Keywords:

Plant growth
Immersion frequency
Organogenesis
Contact time
Medium volume

Abstract

The world consumption of malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) has boomed because it is a nutritious and highly digestible food source. The temporary immersion systems (TIS), allow the automation of the *in vitro* multiplication stage, reducing production costs and allowing both the morphology and physiological behavior of the cultures to be like those presented by plants in *ex vitro* conditions. In order to determine the influence of the variables frequency and immersion time on the growth of *X. sagittifolium* in temporary immersion systems (TIS), a 2³ factorial experiment was designed, 2 immersion frequencies (12 and 24 h), 2 immersion times (15 and 20 min) and 2 volumes of MS culture medium (25 and 50 mL). Morphological variables on seedling growth were evaluated. Although significant differences were obtained in leaf number, fresh weight (mg) at 21 days, root fresh weight (mg), dry weight (mg) and root number, it is considered that both volumes of MS culture medium evaluated here (25 and 50 mL) are an adequate because they allow reducing the frequency of immersion and modifying the immersion time.

(Xanthosoma sagittifolium) seedlings obtained in a

* Autor para

Instituto de Biociencias,
Universidad Autónoma de
Chiapas.
Boulevard Príncipe Akishino
sin número, Colonia
Solidaridad 2000, CP.
30798.
Tapachula, Chiapas, México.
Teléfono: + 52 9626427972.
Correo-electrónico:
isidro.ovando@unach.mx

malanga

1. Introducción

La malanga (*Xanthosoma sagittifolium*), es una planta perene tropical de cormo comestible que pertenece a la familia Araceae (Parra-Melchor et al., 2020). El consumo mundial (90% en fresco, Nazario-Lezama et al., 2020) ha cobrado gran importancia debido al contenido de almidón, de estructura microgranular, minerales (magnesio, hierro, fosforo, potasio, sodio, cobre y manganeso) y vitaminas (C, E y B6) que hacen de la malanga una fuente de alimento nutritiva y de alta digestibilidad (Madrigal-Ambriz et al., 2018). Por la presencia de almidón y su proporción de amilosa y amilopectina en sus cormos, puede ser utilizada en la industria manufacturera (papel, adhesivo y empaques biodegradables) y farmacéutica (Kaushal et al., 2015).

En México, la malanga se cultiva en Oaxaca, Veracruz y Puebla, que en conjunto conforman 100 hectáreas, de las cuales se cosechan 2,500 ton, destinadas a la exportación hacia Estados Unidos y Canadá (Mazariegos et al., 2016). Mazariegos et al. (2016), reportaron que, en la Región Soconusco de Chiapas, México se cultivan 6.1 hectáreas de este rizoma en los municipios de Tuxtla Chico (Ejido Sur de Guillén, 1era. Sección de Guillén Norte y 2da. Sección de Izapa) y Metapa de Domínguez (Cantón Victoria) para la comercialización en el mercado local.

La propagación de la malanga es asexual, a partir de la siembra de cormos o fragmentos de estos, lo cual tiene como ventaja el mantenimiento de la identidad y estabilidad genética de la descendencia. Sin embargo, este método de propagación tiene como desventaja la diseminación de plagas y enfermedades virales, fungosas y bacterianas, que pueden disminuir el rendimiento del cultivo (Vilchez et al., 2011).

Diversos clones de malanga son propagados usando la técnica del cultivo *in vitro* vía organogénesis directa, a través de yemas axilares. Este sistema de regeneración reporta los menores índices de variación genética y es el método más confiable para lograr un proceso de proliferación repetible y libre de agentes contaminantes. Sin embargo, la organogénesis directa está limitada como metodología eficiente de aplicabilidad comercial, principalmente por ciertas limitaciones en cuanto a su porcentaje de multiplicación, altos costos en insumos de producción, a causa del elevado número de operaciones manuales que requiere (Santos-Pino et al., 2011).

Los nuevos retos del cultivo de tejidos incluyen la disminución de costos, la automatización, además la tendencia de pasar de medios sólidos a medios líquidos (García-Ramírez et al., 2016). Dentro de los métodos de multiplicación en medio líquido se encuentran los sistemas de inmersión temporal (SIT), los cuales permiten la automatización de la etapa de multiplicación *in vitro*, ya que reduce costos por explantes, permite mayor optimización biológica por los altos coeficientes de multiplicación que se obtienen y mejor comportamiento de las vitroplantas *ex vitro* (Basail-Pérez et al., 2012).

Las principales desventajas del cultivo en SIT son la hiperhidratación y la oxidación de los tejidos (González et al., 2011). Sin embargo, Ramírez-Mosqueda et al. (2016), demostraron la utilidad del SIT para micropropagación de *Vanilla planifolia*, con un mayor número de brotes y raíces por explantes. Las altas tasas de supervivencia de las plántulas obtenidas con el sistema de inmersión temporal aseguraron el éxito del proceso de micropropagación. Además, no se observaron diferencias en la calidad morfológica o el vigor de los brotes obtenidos a partir del sistema de inmersión temporal.

Teniendo en cuento lo anterior, el presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar las diferencias en el desarrollo morfológico y fisiológico de plántulas obtenidas por sistema de inmersión temporal de malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) en el Soconusco, Chiapas, México.

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal

Se utilizaron plántulas de *X. sagittifolium* cultivadas *in vitro* mediante organogénesis, proporcionadas por el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biociencias (IBC) de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Las vitroplantas fueron subcultivadas en frascos de vidrio de 250 mL con 25 mL de medio MS (Murashige y Skoog, 1962). Para llevar a cabo los experimentos en sistema de inmersión temporal se utilizaron plántulas con una hoja y sin raíces.

2.2 Sistema de inmersión temporal

Los sistemas de inmersión temporal (SIT) se conformaron en dos secciones: la primera sección consistió en dos frascos de vidrio de 400 mL, uno contenía 100 mL medio de cultivo MS y el otro 4 vitroplantas; la segunda sección consistió en dos frascos de 400 mL, uno contenía 200 mL medio de cultivo MS y el segundo 4 vitroplantas.

Los filtros consistieron en frascos de vidrio empacados con algodón quirúrgico conectados a dos tubos de cobre de 6.35 mm de diámetro interno, el primero de 13 cm de altura se utilizó para conducir el aire a la parte inferior del frasco, el segundo de 5 cm se utilizó para la salida de aire. Los frascos de los SIT y los filtros se sellaron con tapones de goma No. 11 y No. 10, respectivamente.

La conexión de los frascos fue mediante mangueras Truper® de PVC de 4.7 mm de diámetro interno con conectores de cobre. El medio de cultivo MS fluyó de un frasco a otro mediante la presión que se ejerció con una bomba de aire (SAP-300 Sunny®) conectada al filtro de aire del frasco con medio de cultivo MS. Para regresar el medio de cultivo se invirtió el flujo de aire.

2.3. Frecuencia y tiempo de inmersión

Con la finalidad de determinar la influencia de la frecuencia y tiempo de inmersión sobre el crecimiento de *X. sagittifolium* en los SIT, se estableció un diseño factorial 2³. Se utilizó un tratamiento adicional con medio semisólido para fines comparativos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos de frecuencias y tiempos de inmersión de <i>Xanthosoma sagittifolium</i> en dos volúmenes de medio de cultivo.			
Tratamientos	Frecuencia de	Tiempo de	Volumen de medio
	inmersión (h)	inmersión (min)	(mL/brote)
1	12	15	25
2	12	20	25
3	24	15	25
4	24	20	25
5	12	15	50
6	12	20	50
7	24	15	50
8	24	20	50
9		SEMI-SÓLIDO	

2.4. Evaluación de variables morfo-fisiológicas

Se evaluaron 11 variables morfo-fisiológicas durante 21 días sobre el crecimiento de plántulas de *X. sagittifolium*. Las variables consistieron en: número de hojas nuevas, número de brotes, número de brotes con síntomas de hiperhidricidad, número de raíces, contenido de clorofila, grosor de la lámina de hoja, número de estomas, tamaño de estomas, peso fresco (mg), peso fresco de raíz (mg), peso seco (mg), peso seco de raíz (mg) y porcentaje de humedad (%).

2.5. Análisis de datos

El experimento fue realizado por triplicado. Para evaluar las variables dependientes del SIT se aplicó ANOVA seguido de la prueba de medias de Tukey (P<0.05) utilizando el paquete estadístico XLSTAT.

3. Resultados

3.1. Número de hojas

El tratamiento T8 mostró el mayor número de hojas, siendo 18.33 el valor promedio. Los que le siguen son los tratamientos T6, T9, T4 y T7, donde el rango osciló entre 13 y 14 hojas (Figura 1). El resto de los tratamientos se encontró por debajo de 13, siendo el tratamiento T3 el que menores hojas tuvo con un valor de 9. El análisis de varianza (F= 2.488, P=0.042), indicó que hay diferencias significativas entre los tratamientos y la comparación de medias mostró que el T8 fue uno de los tratamientos que tuvo el mayor número de hojas a diferencia de los tratamientos T1, T2 y T3.

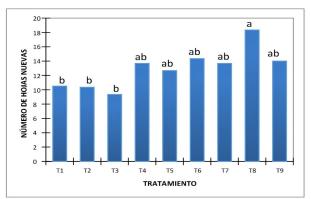


Figura 1. Número de hojas por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.2. Número de brotes

El valor de número de brotes por tratamiento osciló entre 9.0 a 17.0, observando que el tratamiento T6 fue el de mayor número de brotes (n=17.0), seguido por el tratamiento T8. El tratamiento con menor valor de número de brotes fue T7 (Figura 2). El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que se concluye que el número de brotes entre todos los tratamientos es similar.

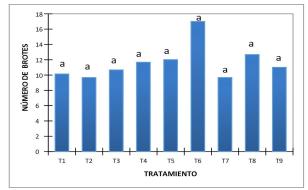


Figura 2. Número de brotes por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.3. Número de brotes con síntomas de hiperhidricidad

El valor de número de brotes con síntomas de hiperhidricidad por tratamiento osciló entre 4.0 a 10.0, observando que los tratamientos T1 y T9 presentaron los mayores valores de número de brotes con hiperhidricidad, 10.1 y 8.6, respectivamente. El tratamiento con menor valor de número de brotes con síntomas de hiperhidricidad fue T7 (Figura 3). A pesar de esto, el análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, observando que existió similitud en los números de brotes con síntomas de hiperhidricidad entre todos los tratamientos.

3.4. Variable raíz

El tratamiento T8 fue el único que superó el número promedio (64.33) de raíces. Los que le siguen son los tratamientos T6 y T3, donde el rango osciló entre 42 y 44 raíces (Figura 4). El resto de los tratamientos se encontró por

debajo de 40 y superiores a 17 raíces, siendo en este último valor el correspondiente para el tratamiento T1. El análisis de varianza reveló que hay diferencias significativas entre los tratamientos, observando con ello que el T8 fue el tratamiento que más raíces tuvo.

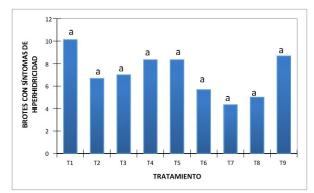


Figura 3. Número de brotes con síntomas de hiperhidricidad por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

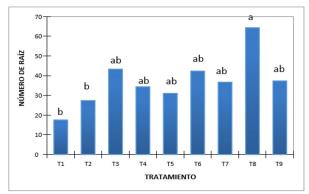


Figura 4. Número de raíces por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.5. Contenido de clorofila

A pesar de que las plántulas de los tratamientos T7 y T8 fueron las que contenían más clorofila (27.00 SPAD), se observó que los tratamientos T6 y T9 fueron los que estuvieron próximos a los tratamientos más sobresalientes (Figura 5), sin embargo, el análisis de varianza reveló que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, que existió similitud en los valores SPAD de clorofila entre todos los tratamientos.

3.6. Grosor de lámina

Los tratamientos más sobresalientes en esta variable fueron el T1 y T6 (Figura 6). Las plántulas de los demás tratamientos se encuentran en un rango de 0.07 a 0.11 mm en grosor de lámina foliar. El análisis de varianza aplicado reveló que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, observando que existió similitud en los valores de grosor de lámina foliar entre todos los tratamientos.

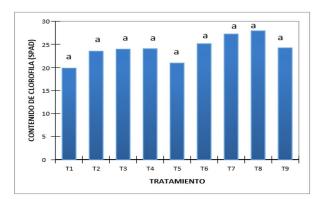


Figura 5. Concentración de clorofila en valor SPAD en todos los tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

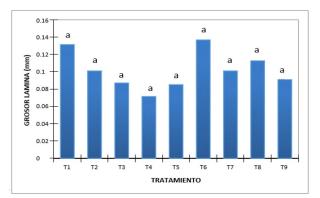


Figura 6. Grosor de lámina foliar en todos los tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.7. Variable peso

El tratamiento T6 fue el único que superó el valor promedio (3026 mg) de la variable peso. Los que le siguen es el tratamiento T8, siendo el valor 2356 mg (Figura 7). El resto de los tratamientos se encontró por debajo de 1984 mg y superiores a 1230 mg, siendo este último valor el correspondiente al tratamiento T2. El análisis de varianza indicó que hay diferencias significativas entre los tratamientos, observando con ello que el T6 fue diferente de los tratamientos T1 y T2.

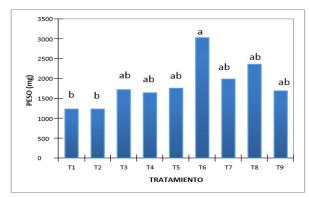


Figura 7. Valor de peso en todos los tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.8. Variable humedad

El tratamiento más sobresaliente fue T5 (Figura 8). Los demás tratamientos se encuentran en un rango de 92 y 94% de humedad. A pesar de lo anterior, el análisis de varianza aplicado indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, observando que existió similitud en los valores de porcentaje de humedad entre todos los tratamientos.

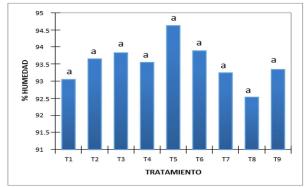


Figura 8. Valor de porcentaje de humedad en todos los tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (p<0.05).

3.9. Estomas en el haz de la hoja

Los primeros tres tratamientos superaron 40 estomas por hoja, siendo el tercero el que presentó el mayor número (n=58) (Figura 9). El resto de los tratamientos se encontró entre 30 y 39 estomas por hoja. El T4 fue el que menor número de estomas presentó. El análisis de varianza indicó que hay diferencias significativas entre los tratamientos, observando con ello que el T3 y T2 son diferentes al T4. El único tratamiento diferente al testigo (T9) fue el T3.

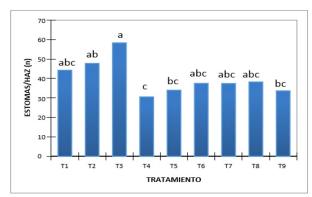


Figura 9. Número de estomas en el haz de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.10. Estomas en el envés de la hoja

Los primeros tres tratamientos superaron 50 estomas por hoja, siendo el T2 el que presentó el mayor número (n=58) (Figura 10). El resto de los tratamientos se encontró entre 33 y 49 estomas por hoja, siendo T7, T8, T4 y T6, los que

presentaron valores menores a 40 estomas por hoja. El T4 y T6 fueron los de menor número de estomas. El análisis de varianza indicó que hay diferencias significativas entre los tratamientos, observando con ello que T1 y T2 son diferentes al T4 y T6, observando una diferencia numérica promedio de 20 entre estos. Todos los tratamientos establecidos tuvieron similitud en el número de estomas con el tratamiento testigo.

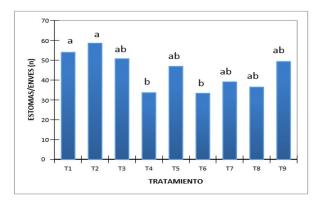


Figura 10. Número de estomas en el envés de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (p<0.05).

3.11. Longitud del estoma en el haz de la hoja

En todos los tratamientos, la longitud de los estomas que se observó fue muy similar, oscilando el tamaño de forma general entre 23 y 26 μ m. El tratamiento T3 en promedio presentó el mayor largo de estoma y el T2 fue el que menor longitud presentó (Figura 11). El análisis de varianza indicó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.

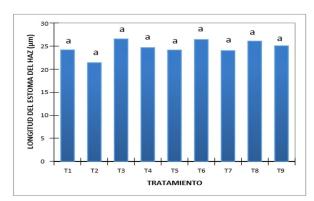


Figura 11. Longitud de la estoma en el haz de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.12. Ancho del estoma del haz de la hoja

El T9 y el T3, fueron los que tuvieron los valores mayores de ancho del estoma, y el T2 fue donde se observó el menor valor de ancho del estoma. En el resto de los tratamientos el valor oscilo de 18.20 a 19.20 µm, observando que hay una fuerte similitud en anchura de estoma entre estos tratamientos (Figura 12). El análisis de varianza indicó que existen

diferencias significativas entre los tratamientos, observando que únicamente el T2 fue diferente a T9.

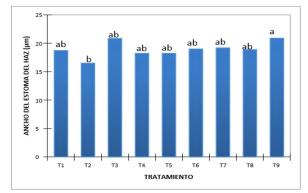


Figura 12. Ancho del estoma en el haz de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.13. Longitud del estoma en el envés de la hoja

El valor de longitud del estoma por hoja en todos los tratamientos osciló entre 23 y 28 µm, observando que el tratamiento T3 fue el de mayor longitud (l=28) y el T2 tuvo el menor valor de longitud (Figura 13). El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

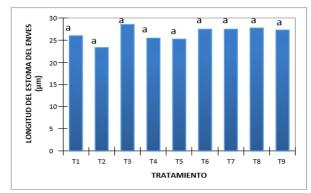


Figura 13. Valor de longitud de la estoma en el envés de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

3.14. Ancho del estoma del envés de la hoja

El valor de ancho del estoma por hoja en todos los tratamientos osciló entre 17 y 20 μ m, observando que el tratamiento T9 fue el de mayor ancho y el T2 tuvo el menor valor de longitud (Figura 14). El análisis de varianza indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, observando que existió similitud en los valores de ancho en estomas entre todos los tratamientos.

4. Discusión

El mejor tiempo de inmersión fue de 15 min para las variables número de hoja, peso fresco de la raíz, peso seco de la raíz y número de raíz. Prolongados periodos de inmersión ocasionan incremento en la hiperhidricidad (Basail-Pérez et

al. 2013). Martre et al. (2001) encontraron que al incrementar el tiempo de inmersión de 12 a 22 min los brotes presentaron hiperhidricidad, longitud inferior y menor número de hojas. Con tiempos de inmersión de 15 y 20 min se hubiera esperado obtener presencia de hiperhidricidad pero no se encontraron datos significativos para esa variable.

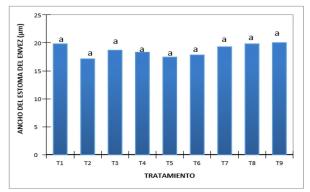


Figura 14. Valor de ancho del estoma en el envés de la hoja por tratamientos. Letras iguales no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

En relación con el número de hojas, el mayor número se presentó en la frecuencia de inmersión de 24 h y la más baja fue en 12 h, coincidiendo esta última con Arano-Avalos et al. (2019), donde la presencia de hojas fue menor en ese mismo tiempo, pero el mayor número de hojas lo obtuvieron en la frecuencia de inmersión de 4 h.

Arano-Avalos et al. (2019) determinaron que los mejores volúmenes de medio de cultivo MS por plántula, para obtener el mayor número de brotes fueron de 25 y 50 mL; aunque no se obtuvo los resultados esperados en la variable número de brote, debido a que no se obtuvieron diferencias significativas a pesar de que se utilizaron los volúmenes de 20 y 25 mL en las pruebas; esto se puede deber a que las frecuencias de inmersión y el tiempo de inmersión tuvieron influencia negativa en el volumen de medio MS, porque el desarrollo de los brotes está relacionado a la renovación de aire y al contacto del medio de cultivo con las plántulas (Arano-Avalos et al., 2019).

También la frecuencia y el tiempo de inmersión pudieron influir en el contenido de clorofila porque no se obtuvo diferencias significativas en esa determinación, siendo los volúmenes de 12.5 y 25 mL los más bajos en la producción de clorofila reportados por Arano-Avalos et al. (2019), por lo tanto se esperaba obtener datos significativos en el volumen de 50 mL, debido a que en un mayor volumen de medio de cultivo hay más disponibilidad de nutrientes, por lo tanto una mayor producción de clorofila.

El SIT le permite a las plántulas tener mejor asimilación de los nutrientes del medio de cultivo líquido en comparación con el medio de cultivo semisólido, al estar las plántulas en contacto con el medio cultivo líquido de manera constante, estas al retener una capa de medio de cultivo incrementa la disponibilidad y la asimilación de los nutrientes, pero

también influye la frecuencia y el tiempo de inmersión (Castro et al., 2001; Escalona et al., 1999; Pinto de Lemos et al., 2001), por lo tanto, se piensa que el método probado con los volúmenes de medio de cultivo MS de 25 y 50 mL son una buena opción reduciendo la frecuencia y modificando el tiempo de inmersión; como reportan Basail-Pérez et al. (2013), quienes obtuvieron los mejores resultados con un tiempo de inmersión de 10 min y una frecuencia de inmersión de 3 h.

En lo relativo al número de estomas por tratamiento, específicamente en el envés, el mayor número se obtuvo a una frecuencia de inmersión (F. I.), tiempo de inmersión (T. I.) y volumen de medio (V. M.), 12.0, 15.0 y 25.0, respectivamente, a diferencia de los valores de F. I., T. I. v V. M. de 24.0, 15.0 o 20.0 y 50.0 respectivamente, donde se obtuvieron tanto en el haz como en el envés cantidades considerables de estomas. Estos resultados podrían revelar un efecto del estrés que tuvieron los brotes vegetales durante el proceso de inmersión en los sistemas, lo que provocó que produjeran más estomas en la zona de menor recepción lumínica. Lo anterior concuerda con lo expuesto por Molina-El Hage et al. (2008), quienes indicaron que las plántulas en condiciones in vitro, la energía implicada en las funciones del desarrollo de las hojas y en la función de las hojas mismas, la obtienen del medio del cultivo para producir sus propios asimilados, induciendo con ello el arreglo morfométrico más viable acorde al proceso de adaptación posterior, que es una respuesta que los autores lo atribuyen a estrés.

Al comparar la longitud de los estomas, se encontró que entre tratamientos y entre cara de la hoja los tamaños fueron similares. Lo anterior se interpreta que independientemente de los valores de F.I., T. I. y V.M., los brotes expuestos a estas condiciones no afectaron al proceso de generación de longitud de las estomas. Toral et al. (2010), indican que el cambio en las condiciones ambientales induce a cambios en el tamaño de los estomas, que es una característica de adaptabilidad de los tejidos según la especie. Lo anterior no coincide con lo encontrado en el presente trabajo para la característica longitud, pero, por otro lado, en lo correspondiente a la anchura, si hay coincidencia, ya que en el valor de ancho de estoma las condiciones más viables encontradas en el presente estudio de F. I., T. I. y V. M. fueron de 12.0, 15.0 o 20.0 y 25.0, mostrando tamaños que oscilaron entre 17.0 y 20.0 µm, independientemente de si es en el haz o en el envés. Álvarez-Bello et al. (2015) indicaron que los cambios de longitud y anchura de los estomas presentes en las áreas foliares de las plantas, son inducidas por moléculas oligogalacturónicas, donde dependiendo del tipo de estrés, el efecto del cambio en tamaño de anchura es mayor, independientemente de la zona haz o envés.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Referencias

- Álvarez-Bello I, Reynaldo-Escobar IM. 2015. Efecto del Pectimorf® en el índice estomático de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*). Cultivos Tropicales 36(3): 82-87.
- Arano-Avalos S, Gómez-Merino FC, Mancilla-Álvarez E, Sánchez-Páez R, Bello-Bello JJ. 2019. An efficient protocol for commercial micropropagation of malanga (*Colocasia* esculenta L. Schott) using temporary immersion. Scientia Horticulturae 261: 108998.
- Basail-Pérez M, Medero-Vega V, Ventura-Martín J de La C, Otero-Gálvez E, Torres-Delgado M, López-Torres J, Cabrera-Jova M, Santos-Pino A, Rayas-Cabrera A, Bauta-Toledo M, Beovidez-García Y. 2012. Multiplicación del clon de banano 'FHIA-18' (AAAB) en Sistema de Inmersión Temporal. Revista Colombiana de Biotecnología 14 (1): 8-19.
- Basail-Pérez M, Medero-Vega V, Torres-Delgado M, López-Torres J, Santos-Pino A, Rayas-Cabrera A, Bauta-Toledo M, Beovidez-García Y, Ortega-Ortiz A. 2013. Nueva alternativa para la micropropagación en inmersión temporal del cultivar de plátano vianda "INIVITPV-2011"(AAB). Revista Colombiana de Biotecnología 15 (1): 98-107.
- Castro D, Díaz J, Montoya N. 2001. Clonal propagation of bananas by biorreactors of temporary immersion. En: Acrobat. Memorias XV Reunión: Realizada en Cartagena de Indias, Colombia.
- Escalona M, Cid M, Lezcano Y, Capote I, Yánez E, González J. 1999. Propagación de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en biorreactores de inmersión temporal. Efecto de la frecuencia de inmersión y el paclobutrazol. BioVeg'99. Ciego de Ávila, Cuba. Libro de resúmenes.
- García-Ramírez Y, González-González M, Torres-García S, Freire-Seijo M, Pérez M, Mollineada-Trujillo A, Rivero L, Barbon R. 2016. Efecto de la densidad de inóculo sobre la morfología y fisiología de los brotes de *Bambusa vulgaris* Schrad. ex Wendl cultivados en Sistema de Inmersión Temporal. Biotecnología Vegetal (16): 231-237.
- González R, Rios D, Avilés F y Sánchez-Olate M. 2011. Multiplicación *in vitro* de *Eucalyptus globulus* mediante sistema de inmersión temporal. Bosque (32): 147-154.
- Kaushal P, Kumar V, Sharma HK. 2015. Utilization of taro (*Colocasia esculenta*): A review. Journal of Food Science and Technology 52(1): 27-40.
- Madrigal-Ambriz LV, Hernández-Madrigal JV, Carranco-Jáuregui MN, Calvo- Carrillo MC, Casas-Rosado RG. 2018. Caracterización física y nutricional del tubérculo Malanga (*Colocasia esculenta* L. Schott) de Actopan, Veracruz, México. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 68(2): 175-183.
- Martre P, Lacan D, Just D, Teison C. 2001. Physiological effects of temporary immersion on *Hevea brasiliensis* callus. Plant Cell Tissue and Organ Culture 67: 25-35.
- Mazariegos-Sánchez A, Águila-González JM, Milla-Sánchez AI, Espinoza-Zaragoza S, Martínez-Chávez J, López-Sánchez C. 2016. Cultivo de malanga (*Colocasia esculenta* Schott) en Tuxtla Chico, Chiapas, México. Agroproductividad 10: 75-80.
- Molina-El Hage LA, Gonzales-Olmedo JL, Fundora Z, Abdulnour J, Desjardins Y, Escalona M. 2008. Aclimatización *in vitro* y *ex vitro*: una estrategia para mejorar la

productividad de la micropropagación en plantas. Revista Revive 15: 15.

- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15(3): 473-497.
- Nazario-Lezama N, Arvizu-Barrón E, Mayett-Moreno Y, Álvarez-Ávila M del C, García-Pérez E. 2020. Producción y comercialización de malanga (*Colocasia esculenta* (L.) Shott) en Actopan, Veracruz, México: Perspectiva de cadena de valor. Agroproductividad 13(5): 59-64.
- Parra-Melchor ME, Pérez-Vázquez A, Arvizu-Barrón E. 2020. Evolution of the Agri-Food chain concept in the 21st Century: the taro case. Agroproductividad 13(11): 81-86.
- Pinto de Lemos EE, De Souza-Ferreira M, Calheiros-Alencar LM, Lessa-Oliveira JG, Sarmento-Magalhães V. 2001. Micropropagation of banana terra using temporary immersion bioreactors. Revista Brasileira de Fruticultura 23(3): 482-487.
- Ramírez-Mosqueda MA, Iglesias-Andreu LG. 2016. Evaluation of different temporary immersion systems (BIT®, BIG, and RITA®) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant 52(2): 154-160.
- Santos-Pino A, Cabrera-Jova M, Gómez-Kosky R, López-Torres J, Rayas-Cabrera A, Basail-Perez M, Medero-Vega V, Beovidez-Garcia Y. 2011. Multiplicación en sistema de inmersión temporal del clon de malanga "Viequera" (*Xanthosoma* spp.). Revista Colombiana de Biotecnología (13): 97-106.
- Toral M, Manríquez A, Navarro-Cerrillo R, Tersi D, Naulin, P. 2010. Características de los estomas, densidad e índice estomático en secuoya (*Sequoia sempervirens*) y su variación en diferentes plantaciones de Chile. Bosque 31(2): 157-164.
- Vilchez J, Albany N, Martínez L, Molina M, Pirela C, Molina M, Álvarez C, Chirinos J. 2011. Multiplicación en sistemas de inmersión temporal y enraizamiento *ex vitro* de ocumo blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). Revista Colombiana de Biotecnología 13(1): 94-102.