

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
Y RECURSOS NATURALES

**DESCRIPCIÓN SISTEMÁTICA DE ACCESIONES DE *XANTHOSOMA* SCHOTT
RECOLECTADAS EN COSTA RICA Y CULTIVO *IN VITRO* DE LAS ESPECIES
SILVESTRES**

**Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de
Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales para optar al grado y título de
Maestría Académica en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales con énfasis en
Biotecnología**

JOSÉ GUILLERMO CHACÓN JIMÉNEZ

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2013

DEDICATORIA

a mi esposa Laura, mi mejor amiga y mi fortaleza en todo momento

AGRADECIMIENTOS

A quien debo más por todo lo que he recibido en la vida, por las oportunidades y las alegrías, así como las dificultades y tristezas que forjan el carácter, a quien me dio todo, a Dios.

A mi esposa por darme su apoyo en todo momento, por todos los esfuerzos que hizo para que yo pudiera tener tiempo o para cuidar a nuestra maravillosa hija, Sofía.

Gracias a Sofía por ser luz y alegría en mi vida cada día.

Mi más sincera y profunda gratitud al Dr. Francisco Saborío por darme la oportunidad de realizar este trabajo de tesis junto a él, quien me ha guiado, ha sido mi amigo y mi consejero.

Agradezco al Dr. Eduardo Gomes Gonçalves, Jardín Botánico INHOTIM, Belho Horizonte, Brasil, quien muy amablemente nos colaboró en el estudio taxonómico del tiquizque y aportó su conocimiento y fotografías, que fueron muy útiles.

A la Dra. Nelly Vásquez, quien me aconsejó, aportó sus críticas constructivas y me dio aliento para seguir adelante.

Al Dr. Tambong, quien me dio sus consejos y nos proveyó de valiosa información.

Al Dr. Arturo Brenes por su colaboración y atinadas sugerencias.

Al Dr. Luis Gómez por sus consejos y apoyo.

A Jorge Chavarría y Carlos Montero por toda su ayuda en el trabajo de campo.

También agradezco al CONICIT por financiar parcialmente este proyecto de tesis, así como al Sistema de Estudios de Posgrado y a la Oficina de Asuntos Internacionales y Cooperación Externa de la Universidad de Costa Rica por financiar el viaje del Dr. Gonçalves.

“Esta tesis fue aceptada por la comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales de la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales con énfasis en Biotecnología”.

M.Sc. Álvaro Azofeifa Delgado
Representante de la Decana
Sistema de Estudios de Posgrado

Dr. Francisco Saborío Pozuelo
Director de Tesis

Dr. Arturo Brenes Angulo
Asesor

Dra. Nelly Vásquez Morera
Asesora

Dr. Eric Guevara Berger
Director Programa de Posgrado en
Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales

José Guillermo Chacón Jiménez
Candidato

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Hoja de Aprobación.....	iv
Índice General.....	v
Resumen.....	vii
Índice de Cuadros	viii
Índice de Figuras.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xiii
Capítulo I	1
1. Introducción	1
2. Objetivos	3
2.1 Objetivo General	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3. Revisión de Literatura	4
3.1 Taxonomía y descripción sistemática.....	4
3.2 Cultivo en Campo	8
3.3 Mal seco	9
3.4 Mejoramiento y uso potencial de la diversidad genética	10
3.5 Cultivo <i>in vitro</i>	12
4. Literatura citada	14
Capítulo II: Recolecta y descripción sistemática de accesiones de <i>Xanthosoma</i> Schott (Araceae) de Costa Rica	21
1. Resumen	21
2. Introducción	22
3. Materiales y Métodos	24
3.1 Recolección de material vegetal y cultivo	24
3.2 Inducción floral y estudio de características florales	28
3.3 Evaluación de caracteres morfológicos vegetativos	28
3.4 Análisis de los datos	29

4. Resultados y Discusión	31
4.1 Recolección y distribución de material vegetal	31
4.2 Floración de materiales	34
4.3 Floración de las accesiones sembrados en campo	38
4.4 Análisis multivariado de los descriptores florales	40
4.5 Determinación taxonómica de las accesiones que florecieron naturalmente	44
4.6 Descripción de los caracteres morfológicos vegetativos y otras identificaciones taxonómicas	53
4.7 Análisis multivariado de los caracteres vegetativos	58
5. Literatura citada	73
Capítulo III: Micropropagación de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott (Araceae) ...	81
1. Resumen Capítulo III	81
2. Introducción	82
3. Materiales y Métodos	84
3.1 Material vegetal	84
3.2 Desinfección e introducción	84
3.3 Ensayo de multiplicación	85
3.4 Medios de cultivo	85
3.5 Evaluación y análisis de resultados	86
4. Resultados	87
4.1 Desinfección e introducción	87
4.2 Multiplicación <i>in vitro</i>	91
5. Discusión	102
6. Literatura citada	108
Capítulo IV. Discusión General	113
Literatura citada	123

RESUMEN

El tiquizque es un cultivo originario de América perteneciente al género *Xanthosoma* Schott (Araceae) que fue dispersado por los trópicos del mundo. En la actualidad es consumido de millones de personas.

Su producción es afectada por diversos factores limitantes, como la falta de variedades mejoradas o tolerantes a enfermedades, tales como el *Potyvirus* del mosaico del dasheen o el Mal Seco, producido por el oomicete *Pythium miryotilum* pv. *aracearum*. Para resolver estas limitaciones, una de las opciones más promisorias es el mejoramiento genético utilizando variedades silvestres que tengan las características deseadas. Para esto es necesario conocer, recolectar y conservar los recursos genéticos de *Xanthosoma*.

El objetivo general de este trabajo fue recolectar y describir sistemáticamente (con parámetros morfológicos) accesiones silvestres y cultivadas del género *Xanthosoma* Schott de Costa Rica, y establecerlas *in vitro*.

Se realizó 22 recolectas de materiales cultivados y 20 recolectas de plantas silvestres. Para comparar se incluyeron en el estudio 16 accesiones de bancos de germoplasma internacionales y dos mutantes por irradiación. Estas plantas se micropropagaron *in vitro* con una metodología para tiquizque blanco y se sembraron en 10 plantas por accesión en bolsas y 20 plantas en campo abierto. Las plantas en bolsas se les aplicó AG₃ para inducir su floración para su descripción morfológica. Además, se describió la morfología vegetativa de los materiales sembrados en campo y la floral de algunas accesiones que florecieron de manera natural. Las plantas inducidas con AG₃ florecieron irregularmente y las inflorescencias fueron secas y deformes. Los análisis taxonómicos y estadísticos multivariados mostraron la alta diversidad disponible e indican que las formas del tiquizque denominadas moradas, tanto silvestres como cultivadas, pertenecen a la especie *X. mafaffa*, mientras que las formas blancas a *X. robustum*. Tres formas amarillas fueron separadas en tres especies: *X. atrovirens*, *X. caracu* y *X. sagittifolium*. Otras cuatro especies silvestres fueron confirmadas en territorio costarricense. La presencia de formas silvestres y cultivadas de *X. mafaffa* en Costa Rica, así como su alta diversidad morfológica presente indican que este país se encuentra en la región de diversidad del cultivo y, posiblemente, en su centro de origen.

Se estableció *in vitro* ápices caulinares de plantas adultas de *X. dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. mexicanum*, *X. robustum*, *X. undipes* y *X. wendlandii* con un protocolo utilizado para tiquizque blanco. Se evaluó el efecto de la becílaminopurina (BA) y el thidiazuron (TDZ) sobre su multiplicación *in vitro*. Se observaron diferencias significativas en la tasa de contaminación y de supervivencia del explante entre especies, no así en la tasa de oxidación. El crecimiento en longitud, ancho de la base y el número de hojas fue significativamente distinto entre especies. En la fase de multiplicación se observó un efecto significativo del tipo de regulador y la dosis. El BA indujo brotes de mayor tamaño y con raíces, mientras que el TDZ indujo más brotes, pero de menor tamaño y sin raíces. Se demuestra que las distintas especies evaluadas en este estudio pueden micropropagarse.

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1.1. Lista de especies del género <i>Xanthosoma</i> Schott cultivadas y consumidas en América	6
Cuadro 2.1. Accesiones recolectadas y de bancos de germoplasma utilizadas en el estudio	25
Cuadro 2.2. Caracteres florales estudiados en las accesiones de tiquizque que florecieron de manera natural.	28
Cuadro 2.3. Descriptores vegetativos estudiados en las accesiones de <i>Xanthosoma</i> sembradas en campo	30
Cuadro 2.4. Accesiones sembradas en bolsas de 50 L que florecieron inducidas por la aplicación de AG ₃	37
Cuadro 2.5. Floración natural de las accesiones del BGT del sembradas campo	39
Cuadro 2.6. Descriptores florales observadas en plantas que florecieron espontáneamente en el campo	41
Cuadro 2.7. Autovalores de los primeros cuatro componentes principales del análisis de los caracteres reproductivos de las accesiones que florecieron naturalmente	46
Cuadro 2.8. Promedio y desviación estándar por especie de las características florales cuantitativas de las accesiones sembradas en campo	51
Cuadro 2.9. Descriptores vegetativos cualitativos observados en plantas sembradas en campo	57
Cuadro 2.10. Descriptores vegetativos cuantitativos del vástago observados en plantas sembradas en campo	62
Cuadro 2.11. Descriptores vegetativos cuantitativos subterráneos y masas observados en plantas sembradas en campo	65
Cuadro 2.12. Autovalores de los primeros seis componentes principales del análisis para los caracteres vegetativos	67
Cuadro 3.1. Porcentajes de oxidación, contaminación y supervivencia de los explantes de especies del género <i>Xanthosoma</i> recolectadas en campo en Costa Rica	87

Cuadro 3.2. Análisis de Varianza factorial del crecimiento de los explantes de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott cultivadas <i>in vitro</i>	88
Cuadro 3.3. Análisis de Varianza del crecimiento de los explantes de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott cultivadas <i>in vitro</i> a los 56 días de siembra	89
Cuadro 3.4. Análisis de Varianza del número de brotes producidos por seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott cultivadas <i>in vitro</i> diferentes dosis de BA o TDZ	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1.1. Planta de <i>Xanthosoma</i> sp. (modificado de Giacometti y León 1994)	7
Figura 2.1. Distribución geográfica de las accesiones del BGT del LBP-CIA-UCR recolectadas en Costa Rica. Codificación de las accesiones en el Cuadro 2.1	33
Figura 2.2. Distancias de Mahalanobis de las accesiones cultivadas y silvestres de <i>Xanthosoma</i> para los tres primeros componentes principales del análisis de los descriptores de las inflorescencias observados en campo	47
Figura 2.3. Inflorescencias de las especies silvestres de <i>Xanthosoma</i> : A) <i>Xanthosoma dealbatum</i> Ts-15; B) <i>X. mexicanum</i> Ts-24; plantas silvestres: C) <i>X. undipes</i> ; D) <i>X. wendlandii</i>	48
Figura 2.4. Inflorescencias de las especies cultivadas de <i>Xanthosoma</i> : A) <i>Xanthosoma caracu</i> Ta-01; B) <i>X. mafaffa</i> Tm-17; C) <i>X. robustum</i> Tb-23; D) <i>X. sagittifolium</i> Ta-03	49
Figura 2.5. Íconos de las plantas descritas por Schott como plantas tipo: A) <i>Xanthosoma sagittifolium</i> ; B) <i>X. violaceum</i> ; C) <i>X. robustum</i> ; D) <i>X. mafaffa</i> . Imágenes provistas amablemente por el Dr. E. Gonçalves Gomes	50
Figura 2.6. Vástago y secciones descritas del algunas de las accesiones: A) Planta de <i>Xanthosoma caracu</i> Ta-01; B) Pecíolo de <i>X. robustum</i> Tb-26; C) y D) lámina foliar abaxial y adaxial de <i>X. mafaffa</i> Tb-02	54
Figura 2.7. Órganos laterales subterráneos encontrados en algunas accesiones: A) Rizomas y cormelos poco definidos <i>X. mafaffa</i> Tb-002; B) Estolones de <i>X. dealbatum</i> Ts-24; C) Cormelos clasificados por tamaño y D) Corte de un cormelo que muestra el color interno y de la corteza de <i>X. mafaffa</i> Tm-07	55
Figura 2.8. Distancias de Mahalanobis de las accesiones cultivadas y silvestres de <i>Xanthosoma</i> para los tres primeros componentes principales del análisis de los descriptores vegetativos observados en campo.....	68
Figura 2.9. Análisis de conglomerados a partir por el método UPMCA a partir del cálculo de distancias de Mahalanobis de los caracteres morfológicos de las accesiones cultivadas y silvestres de <i>Xanthosoma</i> Schott	71

Figura 3.1. Ápices caulinares de <i>Xanthosoma</i> sp. en proceso de eliminación de los pecíolos para su introducción <i>in vitro</i> . Barra de escala representa 1 cm	86
Figura 3.2. Longitud de las hojas de los ápices establecidos <i>in vitro</i> de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días	90
Figura 3.3. Ancho de los ápices sembrados <i>in vitro</i> de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días	90
Figura 3.4. Número de hojas desarrolladas por los ápices sembrados <i>in vitro</i> de seis especies de <i>Xanthosoma</i> Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días	91
Figura 3.5. Producción de brotes en secciones de cormo de <i>Xanthosoma</i> spp. Schott en medios de cultivo de Murashige y Skoog (1962) modificados con uno de los siguientes reguladores de crecimiento vegetal: T0: sin regulador; T1: 3 mg/L de BA; T2: 4,5 mg/L de BA; T3: 6 mg/L de BA; T4: 0,5 mg/L de TDZ; T5: 1 mg/L de TDZ. Barra de error representa una desviación estándar	95
Figura 3.6. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. dealbatum</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L	96

Figura 3.7. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. mafaffa</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L	97
Figura 3.8. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. mexicanum</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L	98
Figura 3.9. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. robustum</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L	99
Figura 3.10. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. undipes</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L	100
Figura 3.11. Brotes producidos <i>in vitro</i> de <i>X. wendlandii</i> luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T4 TDZ 0,5 mg/L; E) T5 TDZ 1 mg/L	101
Figura 4.1 Lámina de Schott lectotipo del vástago de <i>Xanthosoma sagittifolium</i>	116

LISTA DE ABREVIATURAS

2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

AG₃: ácido giberélico.

AIB: ácido indolbutírico.

ANA: ácido naftalenacético

BA: benciladenina o bencilaminopurina.

CP: componentes principales.

DsMV: *Potyvirus* del mosaico de la malanga.

EEAFBM: Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit M.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

LBP-CIA: Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas.

sp: especie no identificada.

spp.: que incluye varias especies del mismo género.

TDZ: thidiazuron.

Ta: tiquizque amarillo.

Tb: tiquizque blanco.

Tm: tiquizque morado.

Ts: tiquizque silvestre.

X.: *Xanthosoma*.

Capítulo I: Introducción

1. Introducción

El tiquizque (*Xanthosoma* spp.) es una planta herbácea, con un ciclo de cultivo anual, que presenta un rizoma principal subterráneo (cormo) a partir del cual se generan rizomas secundarios o cormelos, los que se utilizan para la reproducción asexual. Además, los cormelos son un producto comestible que forma parte de la dieta básica de aproximadamente 400 millones de personas en países de toda la franja tropical en Asia, África y América (Lebot 2009, Onokpise *et al.* 1992a).

El valor nutricional de los cormelos se debe a su contenido de carbohidratos solubles (17-26% del peso fresco) y proteínas (5,1-5,4% del peso fresco) y su bajo contenido de grasa (0,2-0,4% del peso fresco); además, suplen otros elementos, como fósforo, hierro y calcio (O'Hair y Asokan 1986, Onwueme 1978). El tiquizque es atractivo para los consumidores de Europa y de Estados Unidos por estas características, especialmente entre grupos de inmigrantes de países centroamericanos, del Caribe y de África, que lo consumen como producto fresco, pre-congelado o molido en harina (Salazar 2002).

En la década de 1980 se incentivó este cultivo en Costa Rica, como parte de las políticas gubernamentales de diversificación agrícola. En los últimos años, el área de siembra en Costa Rica ha oscilado entre 1000 y 3000 ha, y las exportaciones pasaron de \$300 mil en 1984 a \$3 millones en el 2010 (Alvarado 2011). Los elevados precios internacionales (promedio de \$32,5 por caja de 40 libras) y su rendimiento de producción (6 t ha/año, aproximadamente) hacen del tiquizque un cultivo muy rentable. Este cultivo tiene un gran impacto económico, social y para la seguridad alimentaria nacional, si se considera que 80% de esta producción se encuentra en manos de pequeños y medianos agricultores que residen en zonas rurales pobres, donde existen muy pocas alternativas de producción agrícola.

Los principales problemas fitopatológicos que limitan el crecimiento del cultivo del tiquizque en Costa Rica y otros países tropicales, son el *potyvirus* de la malanga (“*Dasheen*

mosaic potyvirus”, DsMV) y la enfermedad conocida como “mal seco” (Gómez 1993). Los síntomas generados por el DsMV son jaspeados, deformación de la lámina de la hoja y enanismo, por lo que causa una disminución de la productividad de hasta el 47%. Este virus es transmitido por áfidos y se encontró en el pasado en la mayoría de las plantaciones del país (Ramírez 1985, Valverde *et al.* 1997). Sin embargo, esta enfermedad se ha podido controlar mediante la siembra de material libre de virus obtenidas a partir de la siembra de meristemas en cultivo *in vitro* (Saborío *et al.* 1998).

El mal seco también es conocido como pudrición de la raíz, pudrición seca de la raíz, enfermedad de Apolo o root rot disease. Los efectos que éste genera son mucho más severos que los del DsMV, por lo que es considerado el principal obstáculo para la producción de este cultivo en todo el mundo (Giacometti y León 1994). La etiología de esta enfermedad ha causado controversia. Varios investigadores coinciden en que es causada por el ataque inicial de *Pythium myriotylum* a las raíces, seguido de otros patógenos de suelo (Giacometti y León 1994, Nzietchueng 1983, Pacumbaba *et al.* 1992). Esta enfermedad se caracteriza por una marchitez del follaje y la destrucción casi completa de las raíces, lo que ocasiona la muerte de la planta en la mayoría de los casos; pero en otros, la planta permanece enana, las hojas se vuelven cloróticas o mueren y las raíces desaparecen. Periódicamente brotan una o dos hojas nuevas, pero éstas no llegan a alcanzar un desarrollo normal. En Costa Rica, esta enfermedad causa la reducción en el rendimiento y en algunos casos la pérdida total de la producción (Laguna *et al.* 1983). Si se lograran solventar los problemas fitopatológicos mediante la producción de variedades mejoradas con tolerancia o resistencia a *Pythium myriotylum*, se aportaría una solución que permitiría sembrar este cultivo en muchas regiones del país donde en la actualidad ya no se puede por la presencia de la enfermedad. Solucionar esta problemática mediante el desarrollo de variedades comerciales resistentes propiciaría el aumento de la producción del tiquizque, y por ende, incrementaría el papel de este cultivo en el desarrollo agrario nacional. Sin embargo, hay reducida información sobre variedades comerciales resistentes o tolerantes al mal seco (Nyocheng *et al.* 2007).

Una alternativa para el control de esta enfermedad, que no ha sido estudiada, es el uso de especies silvestres u otras especies cultivadas del género *Xanthosoma*, como fuentes de genes de resistencia a *P. myriotylum*. Ya que Costa Rica se ubica en el centro de diversidad del cultivo (O’Hair y Asokan 1986), y que se cuenta con la presencia de cinco especies silvestres en el territorio nacional (Grayum 2003), se abre la posibilidad de que se utilice la variabilidad de estas plantas para el mejoramiento genético del tiquizque. El mejoramiento de este cultivo es un programa a largo plazo que comprende múltiples etapas, iniciando con la recopilación y estudio de los recursos genéticos del cultivo. Un prerrequisito para utilizar los recursos genéticos de un cultivo es conocerlos y, para ello se requiere como primer paso la descripción morfológica de los mismos. Este trabajo pretende completar la recolección, realizar el análisis morfológico y llevar a cabo la identificación sistemática de los recursos genéticos de género *Xanthosoma* presentes en Costa Rica. Además, se complementa con el establecimiento *in vitro* de las accesiones de con el objetivo de conservarlas en un banco de germoplasma.

2. Objetivos

2.1. General

Recolectar y describir sistemáticamente (con parámetros morfológicos) accesiones silvestres y cultivadas del género *Xanthosoma* Schott de Costa Rica, y establecerlas *in vitro* en el banco de germoplasma del Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas (LBP-CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

2.2. Específicos

- 2.2.1 Ampliar la colección de accesiones de *Xanthosoma* Schott del LBP-CIA con la exploración y recolecta de materiales silvestres y cultivados en diferentes zonas del país.
- 2.2.2 Describir la variación morfológica, en el ámbito vegetativo y reproductivo, de las variedades de tiquizque blanco, morado y especies silvestres

relacionadas recolectadas en Costa Rica, así como de las accesiones obtenidas de bancos de germoplasma internacionales.

2.2.3 Definir, con base en análisis taxonómicos y en la literatura, a qué especie pertenecen las accesiones recolectadas no identificadas previamente.

2.2.4 Adaptar las condiciones para el cultivo *in vitro* de las especies silvestres de *Xanthosoma* Schott recolectadas en el país a partir del protocolo del LBT-CIA para las especies cultivadas.

3. Revisión de literatura

El tiquizque es conocido comúnmente con varios nombres, dependiendo de la región, algunos de los cuales son: cocoyam, tannia o tanier en los países de habla inglesa; taioba, mangareto, mangadito y mangarás en Brasil; yautía, malanga, chou o taniera en las Antillas Caribeñas; queiquexque, macal y palagi en México; caraibe o gualuza en Bolivia; malanga o malangay en Colombia; mangadito u okumo en Venezuela; otoe u otó en Panamá; quequisque o quiscamote en Honduras y Nicaragua; sango o malanga en Ecuador; taioba, tania o taro en Puerto Rico y Trinidad y Tobago; yautía y uncucha en Perú (Montaldo 1991). Esta variedad de nombres es en extremo confusa, por lo que una buena descripción taxonómica es necesaria para la conservación y el uso del germoplasma de este cultivo. Además, la conservación y propagación *in vitro* de las diferentes especies de *Xanthosoma* es necesaria para mantener los bancos de germoplasma y obtener grandes cantidades de plantas clonales para las investigaciones en mejoramiento genético convencional o biotecnológico, así como para el intercambio internacional de materiales vegetales.

3.1 Taxonomía y descripción sistemática

Uno de los principales problemas en el estudio de los recursos fitogenéticos de tiquizque es la falta de consenso sobre la identidad de las variedades cultivadas. O'Hair y Asokan (1986) indicaron que al menos 16 especies del género *Xanthosoma* han sido cultivadas en diversas regiones de América (y tal vez algunas aún lo son), pero en algunos

casos se trata de sinónimos nomenclaturales, por lo que se requiere una revisión de las variedades cultivadas para resolver la identidad taxonómica.

La taxonomía de este género es compleja, y existe una gran controversia con respecto a si las variedades cultivadas pertenecen o no a una misma especie, debido a la falta de un tratamiento taxonómico de las especies silvestres relacionadas (Grayum 2003). Por lo general, los clones cultivados de tiquizque han sido asignados como pertenecientes a la especie *X. sagittifolium* Schott (Clement 1994). *X. sagittifolium* Schott ha sido citada como sinónimo de al menos otras cuatro especies (Cuadro 1.1). En gran medida esta situación se debe a la falta de exploración de las poblaciones naturales en su ámbito de dispersión, lo cual conlleva a la falta de material silvestre para estudiar y comparar. Además, esta situación se complica al mantenerse indefinido el centro de origen que, según se supone, es el Valle del Orinoco en Venezuela (Clement 1994, O'Hair y Asokan 1986), por lo que no está clara la relación que existe entre los diferentes genotipos cultivados. La descripción sistemática de las especies silvestres y de las variedades cultivadas de tiquizque podría ayudar en el esclarecimiento de la taxonomía de ese cultivo, la relación entre ellas y su potencial uso en programas de mejoramiento genético.

Un requisito esencial para utilizar los recursos genéticos de un cultivo es conocerlos mediante su descripción morfológica, y para hacer útil dicha información, esta debe organizarse sistemáticamente y presentarse de manera estandarizada para que sea de fácil interpretación. A partir de esta información se puede establecer la identidad del germoplasma (taxonomía), estudiar la diversidad fenotípica, evaluar las características agronómicas y determinar la relación entre estas características y las de uso taxonómico, tomando en cuenta que todas las características a utilizar en una descripción deben tener un componente genético de tal manera que se pueda determinar su heredabilidad. Los caracteres morfológicos o descriptores, como son denominados por el Instituto Internacional de los Recursos Fitogenéticos (ahora Bioversity International), se dividen entre aquellos que son ambientalmente estables y que se utilizan en la descripción botánica y, los ambientalmente variables, de heredabilidad cuantificable y normalmente más utilizados en la evaluación agronómica (Chapman 1989). La lista de descriptores es

adoptada con base en la experiencia y necesidades de los programas de mejoramiento, pero en muchos casos se derivan del conocimiento previo generado por los botánicos.

Cuadro 1.1. Lista de especies del género *Xanthosoma* Schott cultivadas y consumidas en América.

Nombre aceptado	Sinonimias utilizadas en horticultura o botánica
<i>Xanthosoma atrovirens</i> K. Koch	<i>X. sagittifolium</i> (L.) Schott
<i>Xanthosoma auruculatum</i> Regel	
<i>Xanthosoma belophyllum</i> Kunth	
<i>Xanthosoma brasiliense</i> (Desf.) Engl.	<i>X. hastifolium sensu</i> Duss.
<i>Xanthosoma caracu</i> K. Koch & C.D. Bouché	<i>X. sagittifolium</i> (L.) Schott
<i>Xanthosoma helleborifolium</i> (Jacq.) Schott	
<i>Xanthosoma mafaffa</i> Schott	<i>X. jacquinii</i> Schott ex Kunt <i>X. nigrum</i> Stellfeld <i>X. poeppigii</i> var. <i>mafaffa</i> (Schott) J.F. Macbr. <i>X. roseum</i> Schott <i>X. sagittifolium</i> (L.) Schott <i>X. xanthorrhizon</i> (Jacq.) K. Koch
<i>Xanthosoma mexicanum</i> Liebm.	<i>X. pilosum</i> K. Koch & Augustin <i>X. croatianum</i> D.L. Gómez & Gómez-Laur.
<i>Xanthosoma pentaphyllum</i> (Vell.) Schott, <i>Xanthosoma robustum</i> Schott	<i>X. roseum</i> Schott <i>X. sagittifolium</i> (L.) Schott
<i>Xanthosoma sagittifolium</i> (L.) Schott	<i>X. jacquinii</i> Schott ex Kunt <i>X. xanthorrhizon</i> (Jacq.) Kosch
<i>Xanthosoma taioba</i> E.G. Gonç.	
<i>Xanthosoma undipes</i> (K. Koch & Bouché) K. Koch	<i>X. jacquinii</i> Schott nom. Illeg. <i>X. roseum sensu</i> Fl CR, non Schott,
<i>Xanthosoma violaceum</i> Schott	<i>X. nigrum</i> Stellfeld <i>X. sagittifolium</i> (L.) Schott
<i>Xanthosoma wendlandii</i> (Schott) Schott	<i>X. hoffmanii</i> (Schott) Schott,
<i>Xanthosoma yucatanense</i> Engl.	

Tomada de: O'Hair y Asokan (1986), modificada acorde con Gonçalves (2011), MBG (2011), Grayum (2003), Nicolson (1975), Morton (1972) y láminas ícono de Schott.

Los descriptores morfológicos importantes ya han sido listados en el manual para *Xanthosoma* Schott (Thompson 1989). En esta lista se encuentran características tanto vegetativas como reproductivas, pero el valor taxonómico de todas estas no ha sido evaluado. Por ejemplo, el color de algunas porciones de la inflorescencia es considerado

como una de las características taxonómicas más informativas (Croat 1985). No obstante, el estudio de esta y otras características no ha sido aplicado extensivamente en las formas cultivadas del género *Xanthosoma* Schott.

Con base en la información disponible, a continuación se presenta una descripción general de las formas cultivadas del género *Xanthosoma* Schott (Fig. 1). Estas presentan un tallo subterráneo o apenas externo, modificado como un rizoma engrosado o cormo, a partir del cual se producen brotes que generarán los cormelos comestibles o plantas hijas; el color de la pulpa es blanco, crema, amarillo, rosa o morado, los pecíolos entre 29 y 150 cm, envainados del 35 al 60% de su longitud total, a veces teñidos de púrpura, cilíndricos más allá de la vaina; las láminas foliares simples, y miden entre 37 y 61 cm (menos de 100 cm) de longitud, de 27 a 48 cm de ancho (menos de 96 cm), más o menos deltadas, sagitadas en la base, más o menos glaucas o blanquecinas en el envés, con cinco a ocho venas laterales primarias que sobresalen en la superficie adaxial, con la costilla posterior desnuda entre 1 y 10,5 cm; las inflorescencias con espata de color interno verde (en ocasiones con la base teñida en rosa) y externo verde con la lámina crema-coloreada (a veces teñida o enervada de rosado), el espádice está formado por una sección basal femenina, una sección media estéril y una apical masculina, la sección femenina fértil es de color amarillo, protogíneas (Grayum 2003, Montaldo 1991).



Figura 1.1. Planta de *Xanthosoma* sp. (modificado de Giacometti y León 1994).

Entre las variedades de tiquizque cultivado se distinguen tres grupos principales, acorde al color de la parte interna y externa de los cormos y cormelos: las blancas, las moradas y las amarillas. El primero, conocido como tiquizque blanco, tiene el corno central corto, con el interior de los cormelos blanco y de textura suave, la base del pecíolo verde, las hojas de color verde brillante con ocho nervaduras laterales primarias en promedio; la altura de la planta oscila entre 0,9 y 1,5 m. Por su parte, las plantas con cormos y cormelos con coloraciones moradas son conocidos como tiquizque morado, el cual posee un corno de mayor tamaño con numerosos cormelos laterales, las yemas son de color rojizo púrpura, el color de la pulpa es rojizo-rosado, de textura dura, mientras que la base y los márgenes del pecíolo son rosáceos, las hojas son de color verde oscuro en el haz y verde pálido a púrpura en el envés. Sus venas y nervaduras son de tono verde brillante a púrpura oscuro y la altura de la planta oscila entre 0,9 y 1,8 m. El espádice de las variedades moradas es rosa o púrpura en la sección de las flores estériles, mientras que esta es blanca en las variedades blancas (Saborío 2007). También existen variedades de color crema o amarillo en el interior de los cormos y cormelos, cuyas características generales no están descritas en la literatura disponible.

3.2 Cultivo en campo

Para propagar el tiquizque los agricultores utilizan mayormente el corno principal, pero también usan los cormelos más pequeños (O'Hair y Asokan 1986). Recientemente, se ha desarrollado la tecnología para su micropropagación, con lo cual se ha logrado establecer programas de producción de semilla libre de enfermedades y mejorar los rendimientos a corto y mediano plazo con la resiembra de cormelos hasta por tres generaciones posteriores a partir de material micropropagado (Saborío *et al.* 1998, Torres *et al.* 1994, Valverde *et al.* 1997).

El tiquizque se produce comúnmente en tierras bajas, en altitudes por debajo de los 300 m sobre el nivel del mar. Las plantaciones intensivas tienen poblaciones de 10 000 a 30 000 plantas/ha. El suelo se debe preparar con arado y formación de lomillos para permitir el crecimiento de los cormelos. La distancia de siembra debe ser entre 50 a 60 cm entre

plantas y de 1 a 1,3 m entre filas (Saborío 2007). La temperatura óptima para la brotación, desarrollo y producción de cormelos es entre 25 y 28°C, con temperaturas nocturnas entre 14 y 27°C. Para un desarrollo óptimo requiere una precipitación entre 1 500 y 2 000 mm anuales, suelos profundos con pH entre 5,5 y 6,5, fértiles, ricos en materia orgánica y buen drenaje natural. El fotoperiodo influye sobre el número de hojas, la altura de la planta y la calidad de los cormelos, con un óptimo de 11 - 12 horas luz diarias (Torres *et al.* 1994).

3.3 *Mal Seco*

Como se indicó anteriormente, existe una controversia en torno a cuál o cuáles son los organismos causantes del mal seco. Esto podría deberse a la poca especificidad de los síntomas, ya que son típicos de cualquier organismo que ataque las raíces, lo cual podría significar que en la literatura se están informando distintos problemas fitopatológicos con semejante sintomatología (Saborío 2007). Algunos trabajos de investigación informan del aislamiento de hongos como *Pythium splendens*, *Pythium myriotylum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* de raíces de plantas afectadas con mal seco (Plaza *et al.* 1992, Houtondji *et al.* 1985, Laguna *et al.* 1983), así como bacterias de los géneros *Erwinia* y *Pseudomonas* (Mora *et al.* 1991). Es por ello que se habla de un “complejo” en el cual estarían interviniendo varios factores, tanto bióticos como abióticos (mal drenaje). Sin embargo, *P. myriotylum* es el agente causal más probable (Pacumbaba *et al.* 1992, Tambong *et al.* 1999). Es importante mencionar que se determinó la existencia de una variedad de *P. myriotylum* (var. *aracearum*) con un mayor grado de especificidad y gran capacidad infectiva hacia las especies cultivadas de *Xanthosoma* de Costa Rica y Camerún, del cual se obtuvieron varios aislamientos en territorio costarricense (Perneel *et al.* 2006).

Se han utilizado múltiples estrategias para tratar de controlar el “mal seco”. El control químico no ha dado buenos resultados en el campo o ha demostrado ser de alto costo (MAG – INFOAGRO 2003). Debido a que la enfermedad se asocia a condiciones de alta precipitación y acumulación de agua, se han diseñado prácticas como el uso de terrenos en los cuales no se han cultivado aráceas previamente, la construcción de canales de drenaje, la rotación de cultivos, la siembra en lomillos altos y el uso de semilla sana procedente de

cultivo de tejidos (Monge *et al.* 1987, Torres *et al.* 2000). Sin embargo, estas prácticas solamente logran retrasar la aparición de la enfermedad, por lo que sigue existiendo la posibilidad del uso de variedades mejoradas con resistencia a mal seco, como se ha estudiado en variedades cultivadas en Camerún (Pacumbaba *et al.* 1992, Wutoh *et al.* 1994) y en híbridos de *Caladium* con diferentes grados de tolerancia a *P. myriotylum*, entre los cuales se seleccionó algunos con mayor potencial para el desarrollo de nuevas variedades (Deng *et al.* 2005).

3.4 Mejoramiento y uso potencial de la diversidad genética

La mayoría de los esfuerzos para la mejora genética del tiquizque se han concentrado en la introgrección de resistencia al mal seco, aunque también se ha trabajado sobre el aumento de la producción, la mejora de caracteres morfológicos, como pecíolos más cortos, y en la vida poscosecha de los cormelos (Álvarez y Hahn 1983). Se han utilizado cuatro estrategias principales para el mejoramiento del tiquizque en distintos países (Saborío 2007): mejoramiento convencional, inducción de mutaciones, inducción de poliploidía y transformación genética.

Una de las limitantes en el estudio de la taxonomía y el mejoramiento genético del tiquizque consiste en la baja tasa de floración natural de estas plantas y, por ende, en la dificultad para producir semilla sexual (Alamu y McDavid 1978a). Las variedades blancas florecen rara vez en Costa Rica, mientras que las moradas lo hacen con mayor frecuencia, pero solo en algunas áreas del país y una vez al año (Saborío 2007). Esto puede deberse a que las plantas son cosechadas antes de que entren en la etapa fenológica de floración (ocho a doce meses después de la siembra), o a la acumulación de mutaciones mantenidas por su propagación principalmente vegetativa. Otro problema relacionado con la baja obtención de frutos está asociado al lento o nulo crecimiento del tubo polínico (Tambong y Meboka 1994).

Para solucionar estos problemas se han desarrollado metodologías para la producción artificial de flores y la polinización manual. La inducción floral se ha conseguido mediante

la aplicación de ácido giberélico (AG₃) (Aguagua y Nzietchueng 1983, Alamu y McDavid 1978a, Saborío *et al.* 2000). El efecto del AG₃ depende de la concentración, de la edad de la planta y del modo de aplicación. Saborío *et al.* (2000) encontraron que dosis de AG₃ entre 250 y 500 mg/L inducen la floración tanto en tiquizque morado como blanco, aunque las plantas más viejas tienen una menor respuesta, lo cual coincide con las observaciones de Alamu y McDavid (1978b). La manera de inducir más rápidamente la floración (presente a los 17 días) es con la inmersión del material de siembra en AG₃ 500 mg/L por 30 minutos (Alamu y McDavid 1978b). No obstante, el momento de aparición de la inflorescencia puede variar en función de la variedad, el momento y la frecuencia de las aplicaciones del AG₃.

Alamu y McDavid (1985) estudiaron la variabilidad genética presente en la variedad trinitaria 'Bagatelle'. Estos investigadores compararon 100 plantas en las características altura, número de hojas, color de la hoja, comportamiento de floración, producción de corno y cormelos, su calidad y la susceptibilidad al DsMV, y encontraron un grado considerable de diversidad genética dentro del cultivar, y concluyeron que este contiene un potencial considerable para el mejoramiento por medios convencionales. La capacidad técnica para inducir la floración, y las observaciones realizadas por Alamu y McDavid (1985) sentaron las bases para los programas de mejoramiento alrededor del mundo. Uno de los más grandes esfuerzos en este sentido fue el Proyecto de Investigación en Raíces y Tubérculos (por sus siglas en inglés ROTREP) en Camerún, diseñado para desarrollar variedades tolerantes o resistentes al mal seco (Wutoh *et al.* 1994). Este tiene sus orígenes en el Programa Nacional de Camerún para el Mejoramiento de las Raíces Cultivadas, que inició al final de la década de 1970, y que trabajó en colaboración con el Instituto Internacional para la Agricultura Tropical en Nigeria (Álvarez y Hahn 1983).

En el ROTREP se estudió el banco de germoplasma del tiquizque de Camerún, donde se encontró tres tipos de tiquizque que diferían en el color del interior de los cormelos: morado o rojo, blanco y amarillo. Estas variedades difirieron en su grado de susceptibilidad a *P. myriotylum*: la blanca se comportó como la más susceptible; la amarilla, la más resistente. La desventaja del tiquizque amarillo es que rara vez produce cormelos y son

muy pequeños (Bosque-Vega 1990), y no es compatible sexualmente con las variedades blancas o moradas (Onokpise *et al.* 1992b).

En Camerún se ha logrado obtener cruces entre variedades moradas y blancas, lo que sugiere que los tiquizques morado y blanco pertenecen a la misma especie, pero no así el amarillo (Onokpise *et al.* 1992b). Esta incompatibilidad está relacionada con los diferentes niveles de ploidía entre las accesiones: las blancas y moradas son diploides ($2n = 2x = 26$), mientras que las amarillas son tetraploides ($2n = 4x = 52$) (Esnard *et al.* 1993). Por lo tanto, se han de utilizar otras técnicas como la duplicación cromosómica (Bejarano-Mendoza *et al.* 2001, Esnard *et al.* 1993, Tambong *et al.* 1998), la fusión de protoplastos y la ingeniería genética, para transferir la resistencia a las variedades productivas (Saborío 2007).

3.5 Cultivo *in vitro*

El cultivo *in vitro* del tiquizque inició con la intención de obtener plantas libres del DsMV y otras enfermedades (Hartman 1974, Redway 1983, Monge *et al.* 1987, Salazar *et al.* 1986, Torres *et al.* 1994, Zettler y Hartman 1987). Varias investigaciones del LBP-CIA de la Universidad de Costa Rica, establecieron los protocolos para la producción de plántulas libres de virus a partir del cultivo *in vitro* de meristemos con dos o tres primordios foliares (Saborío *et al.* 1998, Torres *et al.* 1994, Gómez *et al.* 1989, Monge *et al.* 1987). Este sistema de micropropagación implica una etapa de introducción de los meristemos en un medio con reguladores de crecimiento vegetal y luego una etapa de crecimiento sin estos reguladores, seguida por una de multiplicación en un medio con una citoquinina (Saborío *et al.* 1998). Las dos últimas etapas se pueden alternar en períodos de 28 – 30 días para realizar la micropropagación. Este método ha resultado exitoso para la producción de plantas de alta calidad, con lo cual se puede ofrecer plantas sanas a los agricultores nacionales. Otros estudios realizados en tiquizque blanco han logrado igualmente propagarlo en presencia de BA (Vílchez *et al.* 2009), producir embriones somáticos (Gómez *et al.* 1992), callogénesis (Redway 1983, Liu *et al.* 1988, Nyochembeng y Garton 1998, Paul y Bari 2007), micro cormelos *in vitro* (Omokolo *et al.* 2003) y protoplastos (Liu *et al.* 1983, Liu *et al.* 1988). En varios genotipos de tiquizque se ha logrado la proliferación

in vitro de protocormos, que posteriormente se pueden desarrollar en plantas completas (Acheampong y Henshaw 1983, Quynh y Uyen 1987). También se ha logrado la micropropagación de otras variedades de tiquizque mediante el cultivo y la proliferación de brotes caulinares, como en el tiquizque color crema, *X. caracu* (Asokan *et al.* 1984, Strauss y Arditti 1980).

El regulador de crecimiento thidiazuron (TDZ) ha sido utilizado con éxito en la micropropagación de *Colocasia esculenta* (L.) Schott, con un aumento marcado de la tasa de multiplicación y una mejora en la morfología de los nuevos brotes, frente al BA, que se ha utilizado convencionalmente en la micropropagación de este cultivo (Chand *et al.* 1999). En *C. esculenta* var. *esculenta* se ha logrado la obtención de embriones somáticos mediante el cultivo de discos de cormo en un medio con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), seguido por un subcultivo en un medio con TDZ (Deo *et al.* 2009). En *Alocasia amazonica*, el cultivo de cormos en un medio semisólido solo con TDZ como regulador de crecimiento permitió incrementar la tasa de producción de brotes en comparación al uso de BA o Kn, o la combinación de una de estas tres sustancias con AIA o ácido indolbutírico (AIB) (Jo *et al.* 2008). En el caso de *X. sagittifolium*, el TDZ solo se ha utilizado en combinación con Dicamba para la inducción de callo, en cuyo caso el TDZ se encontró favorable en baja concentración, y los subcultivos del callo en medio con TDZ permiten la regeneración de plantas (Nyochembeng y Garton 1998). Este regulador de crecimiento vegetal es una alternativa a evaluar en busca de aumentar las tasas de propagación del tiquizque en cultivo *in vitro*, tal como lo ha sido para otras plantas (Murthy *et al.* 1998).

Las tecnologías de cultivo *in vitro* de plantas tienen un gran potencial para la recolección, conservación e intercambio de recursos genéticos de especies de semillas recalcitrantes y propagadas vegetativamente (Sánchez-Chiang y Jiménez 2010, Engelmann 1998). La conservación *in vitro* de los recursos fitogenéticos de cultivos poco estudiados es importante, pues mediante esta técnica se incrementa la seguridad de su conservación, disminuyen los costos, aumenta la posibilidad de recuperar rápidamente mayores volúmenes de plantas, y se reduce el riesgo de infección con patógenos sistémicos, entre otras razones (Ashmore 1997, Shibli *et al.* 2006). Por esto se han realizado estudios sobre

la conservación *in vitro* del tiquizque. El almacenamiento a largo plazo (por 80 semanas en el mismo medio) de una variedad comercial de *Xanthosoma* se logró mediante el cultivo de secciones de cormo en el medio de White (Acheampong y Henshaw 1983). Zandvoort *et al.* (1994) encontraron factible el cultivo por largo plazo de *X. sagittifolium*, *X. brasiliense* y *X. robustum* en el medio de Murashige y Skoog (1962) suplementado con 3% de manitol a 13°C, con lo que lograron mantener las plántulas sin transferir por cuatro años. Coincidentemente, Muñoz-Fonseca (1992) encontró adecuado utilizar manitol al 3% para disminuir la tasa de crecimiento; sin embargo, encontró mejor el medio de Heller (1953) para el mantenimiento de las plantas en un estado de crecimiento mínimo con follaje mucho más sano vs. el medio de Murashige y Skoog (1962) completo o a la mitad de concentración. La ampliación de estos estudios a otras especies silvestres podría mejorar su conservación para su potencial uso en futuros programas de mejoramiento. Para las especies silvestres de *Xanthosoma* aún no se ha realizado un estudio de las condiciones adecuadas para el cultivo *in vitro* y su micropropagación, y en algunas pruebas preliminares en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas (LBP-CIA) de la Universidad de Costa Rica se han observado tasas de crecimiento y multiplicación no óptimas con el protocolo para especies cultivadas.

4. Literatura citada

- Acheampong, E y Henshaw, GG. 1983. *In vitro* methods for cocoyam improvement. In: Proc. 2th Triennial Symposium of the Intl. Soc. Tropical Root Crops. Doula, Camerún. Pp. 165-168.
- Agueguia, A y Nzietchueng, S. 1983. Production of hybrid *Xanthosoma sagittifolium* and test for resistance to *Pythium myriotylum*. In: Proc. 2th Triennial Symposium of the Intl. Soc. Tropical Root Crops. Doula, Camerún. Pp. 169-171.
- Alamu, A y McDavid, CR. 1985. Genetic variability in tannia *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). Trop. Agric. (Trinidad) 62:30-32.
- Alamu, A y McDavid, CR. 1978a. Promotion of flowering in edible aroids by gibberellic acid. Trop. Agric. (Trinidad) 55:81-86.

- Alamu, A y McDavid, CR. 1978b. Effect of time and method of application of gibberelic acid on the growth and promotion of flowering in tannia (*Xanthosoma sagittifolium*). Trop. Agric. (Trinidad) 55:235-241.
- Alvarado, AL. 2011. Análisis del mercado del tiquizque. Servicio de Información de Mercados, Consejo Nacional de la Producción. San José, CR.. Boletín Tiquizque N° 01-2011. 10 p. Online: http://www.mercanet.cnp.go.cr/SIM/Frutas_y_Vegetales/documentospdf/Tiquizque.pdf. Consultado 10 de junio del 2011.
- Álvarez, MN y Hahn, SK. 1983. Cocoyam breeding at the International Institute of Tropical Agriculture. In: D Dolby. (ed.). Proceedings of the Caribbean Regional Workshop on Tropical Root Crops. St. Augustine, Trinidad. s.p.
- Ashmore, SE. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* technique for the conservation and use of plant genetic resources. Roma, IT., International Plant Genetic Resources Institute. 67 p.
- Asokan, ML, O'Hair, SK y Litz, RE. 1984. Rapid multiplication of *Xanthosoma caracu* by *in vitro* shoot tip culture. HortScience 19: 885-886.
- Bejarano-Mendoza, CA, Zapata, M, Bosque, A y Rivera-Amador, E. 2001. Diferentes niveles de ploidía como estrategia de control del mal seco en yautía. J. Agric. Uni. P.R. 85: 69-82.
- Bosques-Vega, A. 1990. Effect of continuous planting of tannier (*Xanthosoma* spp.) at the same site for two successive years. In: Proceedings of 26th Meeting of the Caribbean Food Crops Society. Mayaguez, Puerto Rico. Pp. 434-440.
- Chapman, C. 1989. Principles of germplasm evaluation. In: HT Stalker y Chapman, C (eds.). Scientific management of germplasm: characterization, evaluation and enhancement. IBPGR Training Courses: Lectures Series 2. Department of Crop Science North Carolina State University – International Board for Plant Genetic Resources. Roma, It. Pp. 55-63.
- Chand, H, Pearson, MN, Lovell, PH. 1999. Rapid vegetative multiplication in *Colocasia esculenta* (L.) Schott (taro). Plant Cell Tis. Org. Cult. 55:223-226.
- Clement, CR. 1994. Crops of the Amazon and Orinoco regions: Their origin, decline and future. In: Hernández-Bermejo, JE y León, J (eds). Neglected Crops: 1492 from a Different Perspective. FAO, Roma. Pp. 195-203.
- Croat, TB. 1985. Collecting and preparing specimens of Araceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 72:252-8.

- Deng, Z, Harbaugh, BK, Kelly, RO, Seijo, T y McGovern, RJ. 2005. Screening for resistance to *Pythium* Root Rot among twenty-three *Caladium* cultivars. Gainesville, FL, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Documento ENH 1008. 3 p.
- Deo, PC, Harding, RM, Taylor, M, Tyagi, AP y Becker, DK. 2009. Somatic embryogenesis, organogenesis and plant regeneration in taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta*). *Plant Cell. Tis. Org. Cult.* 99: 61–71.
- Engelmann, F. 1998. *In vitro* germplasm conservation. *Acta Hortic.* 461: 41-7.
- Esnard, J, Ferwerda, E, Rivera-Amador, E y Hepperly, PR. 1993. Induction of tetraploidy in the tanier cultivar var. “Inglesa” (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Plant Breed.* 111:335-338.
- Giacometti, DC y León, J. 1994. Tannia, yautia. Neglected crops: 1492 from a different perspective. *FAO Plant Production and Protection Series*, No.26. Roma, FAO. Pp. 253-258.
- Gómez, L. 1993. El “Mal Seco” del tiquizque: taller de aplicaciones de la biotecnología en raíces, tubérculos y pejibaye. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. S.p.
- Gómez, L, Valverde, R, Arias, O y Thorpe, T. 1992. Regeneración de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*) por embriogénesis somática. *Agron. Costarricense* 16:2192-23.
- Gómez, L, Monge, M, Valverde, R, Arias, O y Thorpe, T. 1989. Micropropagación de tres aráceas comestibles libres de virus. *Turrialba* 39:155-61.
- Gonçalves, EG. 2011. The commonly cultivated species of *Xanthosoma* Schott (Araceae), including four new species. *Aroideana* 34:3-34.
- Grayum, MH. 2003. Araceae. In B Hammel, MH Grayum y E Zamora (eds.). *Manual de plantas de Costa Rica, Vol. III: gimnospermas y monocotiledóneas (Agavaceae – Musaceae)*. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 59–199.
- Hartman, RD. 1974. Dasheen mosaic virus and other phytopathogens eliminated from caladium, taro and cocoyams by culture of shoot tips. *Phytopath.* 64:237-40.
- Heller R. (1953). Recherches sur la nutrition minérale des tissus cultivés *in vitro*. *Ann. Sci. Nat. Biol. Vég.* 14:1-223.
- Hountondji, A, Prior, P, Beramis, M y Messiaen, C. 1985. Le dépérisement du “chou caraïbe” (*Xanthosoma sagittifolium*) en Martinique. *Agronomie Trop.* 40:167-172.

- Jo, UA, Murthy, HN, Hahn, EJ y Paek, KY. 2008. Micropropagation of *Alocasia amazonica* using semisolid and liquid cultures. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 44: 26–32.
- Laguna, Ig, Salazar, LG y López, JF. 1983. Enfermedades fungosas y bacterianas de las aráceas de Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 30 p.
- Lebot, V. 2009. Tropical root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids. Crop Production Science in Horticulture Series N° 17. CABI, Wallington, UK. Pp. 285-300.
- Liu, L-J, Rosa-Márquez, E, Licha, M y Biascochea, ML. 1988. Tanier (*Xanthosoma* spp.) propagation *in vitro*. *J. Agric. Univ. P.R.* 72: 413-426.
- Liu, L-J, Rosa-Márquez, E, Licha, M y Biascochea, ML. 1983. Isolation and culture of callus and protoplast of tanier (*Xanthosoma* spp.) in Puerto Rico. *Phytopath.* 72: 791.
- MAG-INFOAGRO (Ministerio de Agricultura y Ganadería - Sistema de Información del Sector Agropecuario Costarricense). 2003. Guía para el cultivo del Tiquizque. San José, CR. Online: <http://www.infoagro.go.cr/tecnologia/tuberculos/tiquizque.htm>. Consultado: marzo de 2006.
- MBG (Missouri Botanical Garden). 2011. Tropicos® Electronic Database: *Xanthosoma*. Online: <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Xanthosoma&commonname=>. Consultado junio de 2011.
- Monge, M, Arias, O y Ramírez, P. 1987. Obtención de plantas de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*), de tiquizque morado (*X. violaceum*) y de ñame (*Colocasia esculenta*) libres de virus por medio de cultivo *in vitro* de ápices. *Agron. Costarricense.* 11:71-79.
- Montaldo, A. 1991. Tiquizque. *In* A Montaldo (comp.). Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. San José, IICA. 408 p.
- Mora, J, Gómez, L y Mora, F. 1991. Patogenicidad de dos bacterias asociadas a la pudrición radical de las aráceas. *CORBANA* 15:16-19.
- Morton, JF. 1972. Cocoyams (*Xanthosoma caracu*, *X. atrovirens* and *X. nigrum*), ancient root- and leaf- vegetables, gaining economic importance. *Proc. Flo. St. Hortic. Soc.*:85-94.
- Muñoz-Fonseca, ME. 1992. Conservación *in vitro* de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). Tesis Lic. Ing. Agr. énfasis Fitotecnia. San José, CR, Universidad de Costa Rica. 100 p.

- Murashige, T y Skoog, M. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Murthy, BNS, Murch, SJ y Saxena, PK. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* morphogenesis. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 34:267-275.
- Nicolson, DH. 1975. A new leptotypification of the genus *Xanthosoma* Schott (Araceae). *Taxon* 24: 345-347.
- Nyochembeng, LM, Beyl, CA, y Pacumbaba, RP. 2007. Peroxidase activity, isozyme patterns and electrolyte leakage in roots of cocoyam infected with *Pythium myriotylum*. *J. Phytopath.* 155:454-461.
- Nyochembeng, S y Garton, S. 1998. Plant regeneration from cocoyam callus derived from shoot tips and petioles. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 53:127-134.
- Nzietchueng, S. 1983. La pourriture racinaire du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) au Cameroun: I. Syntomatologie de la maladie. *Agronomie Trop.* 38:321-5.
- O'hair, SK y Asokan, MP. 1986. Edible aroids: botany and horticulture. *Hortic. Rev.* 8:43-99.
- Omokolo, ND, Boudjeko, T y Tsafack-Takandong, JJ. 2003. *In vitro* tuberization of *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott: effects of phytohormones, sucrose, nitrogen and photoperiod. *Sc. Hortic.* 98:337-345.
- Onokpise, OU, Tambong, JT, Nyochembeeg, L y Wutoh, JG. 1992a. Acclimatization and flower induction of tissue culture derived cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) plants. *Agronomie* 12:193-199.
- Onokpise, OU, Meboka, M y Wutoh, JG. 1992b. Hybridization and fruit formation in macabo cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Ann. Appl. Biol.* 120:527-535.
- Onwueme, IC. 1978. The tropical tuber crops: yam, sweet potato and cocoyam. Nueva York, Wiley. Pp. 220-227.
- Pacumbaba, RP, Wutoh, JG, Eyango, SA, Tambong, JT y Nzietchueng, LM. 1992. Isolation and pathogenicity of rhizosphere fungi of cocoyam in relation to cocoyam root rot disease. *J. Phytopath.* 135:265-273.
- Paul, KK y Bari, MA. 2007. Protocol establishment for micropropagation and *in vitro* callus regeneration of Maulavi Kachu (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) from cormel axillary bud meristem. *J. Plant Sci.* 2: 398-406.

- Perneel, M, Tambong, JT, Adiobo, A, Floren, C, Saborio, F, Lévesqye, A, y Höfte, M. 2006. Intraspecific variability of *Pythium myriotylum* isolated from cocoyam and other host crops. *Myc. Res.* 110: 583-593.
- Plaza, J, Hepperly, P y Dávila, M. 1992. La etiología del “Mal Seco” de la yautía (*Xanthosoma sagittifolium*). *In* Encuentro Disciplinario de los Investigadores del “Mal Seco” de la Yautía. Puerto Rico. S.p.
- Quynh, N-T y Uyen, N-V. 1987. Aroids propagation by tissue culture I: shoot tip culture and propagation of *Xanthosoma violaceum*. *HortScience* 22: 671-672.
- Ramírez, P. 1985. Aislamiento y caracterización del virus del mosaico del “Dasheen” (DMV) en Costa Rica. *Turrialba* 35:79-83.
- Redway, F. 1983 Tissue culture of cocoyams, *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott. *In*: Root Crop in the Caribbean: Proc. Caribbean Regional Works. Trop. Root Crops. Jamaica.
- Saborío, F. 2007. Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *In*: Ochatt, S y Jain, SM. 2007. Breeding of neglected and under-utilized crops, spices and herbs. Science Pub., Nueva Jersey. Pp. 171-187.
- Saborío, F, Gómez, L, Torres, S y Valverde, R. 2000. Inducción floral en tiquizque (*Xanthosoma* spp.) en cinco regiones de Costa Rica. *Agron. Costarricense* 24:37-45.
- Saborío, F, Torres, S y Gómez, L. 1998. Development of a clean-planting-material production system on tropical root and tuber crops, using *in vitro* propagated plants. *Acta Hortic.* 461:495-501.
- Salazar, W. 2002. La malanga. Servicio de información y censo agropecuario del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Quito, Ecuador. Online: <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/raices/malanga/malanga.pdf>. Consultado julio 2005.
- Salazar, S, Fernández, R y Jarret, R. 1986. Virus-free plants obtained by thermotherapy and meristem culture of white (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) and purple (*X. violaceum* Schott) cocoyams. *In*: VIIIth Symp. Intl. Soc. Tropical Root Crops, Gosier, Guadalupe. Pp. 161-176.
- Sánchez-Chiang, N y Jiménez, VM. 2010. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. *Agron. Mesoam.* 21:193-205.
- Shibli, RA, Shatnawi, MA, Subaih, WS y Ajlouni, MM. 2006. *In vitro* preservation and cryopreservation of plant genetic resources: a review. *World J. Agric. Sci.* 2: 372-382.

- Strauss, MS y Arditti, J. 1980. Plantlet regeneration from shoot tip cultures of *Xanthosoma caracu*. Ann. Bot. 45:209-212.
- Tambong, JT, Poppe, J y Höfte, M. 1999. Pathogenicity, electrophoretic characterisation and in planta detection of the cocoyam root rot disease pathogen, *Pythium myriotylum*. Eur. J. Plant Pathol. 105: 597–607.
- Tambong, JT, Sapra, VT y Garton, S. 1998. *In vitro* induction of tetraploids in colchicine-treated cocoyam plantlets. Euphytica 104: 191–197.
- Tambong, JT y Meboka, M. 1994. Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) hybridization studies: pollen viability and seed germination. Acta Hort. 380:448-452.
- Thompson, SA. 1989. Descriptors for *Xanthosoma*. International Board for Plant Genetic Resources. Roma. 30 p.
- Torres, S, Gómez, L, Saborío, F y Valverde, R. 2000. Comportamiento en el campo de siete genotipos de tiquizque (*Xanthosoma* spp.) propagados *in vitro*. Agron. Costarricense 24:7-17.
- Torres, S, Gómez, L, Valverde, R, Arias, O y Thorpe, T. 1994. Micropropagation and field performance of virus-free white cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) in Costa Rica. In: Proceedings of the Caribbean Food Crop Society 30th Annual Meeting . St. Thomas. Pp. 137-145.
- Valverde, R, Gómez, L, Saborío, F, Torres, S, Arias, O y Thorpe, T. 1997. Field evaluation of Dasheen Mosaic Virus-free cocoyam plants produced by *in vitro* techniques. Sc. Hort. 68:37-47.
- Vílchez, J, Rivas, Y, Albany, N, Molina, M y Martínez, L. 2009. Efecto de la N⁶ bencilaminopurina sobre la multiplicación *in vitro* de ocumo criollo (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). Rev. Fac. Agron. (LUZ) 26: 212-222.
- Wutoh, J, Tambong, JT, Meboka, M, Nzietchueng, S, Ofori, F y Hahn, S. 1994. Field evaluation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) for tolerance to the root rot disease caused by *Pythium myriotylum*. Acta Hort. 380:462-466.
- Zandvoort, EA, Hulshof, MJH y Staritsky, G. 1994. *In vitro* storage of *Xanthosoma* spp. under minimal growth conditions. Plant Cell Tis. Org. Cult. 36:309-316.
- Zettler, FW y Hartman, RD. 1987. Dasheen mosaic virus as a pathogen of cultivated aroids and control of the virus by tissue culture. Plant Dis. 71:958-969.

Capítulo II: Recolecta y descripción sistemática de accesiones de *Xanthosoma* Schott (Araceae) de Costa Rica

1. Resumen

Se realizó un estudio de accesiones del tiquizque, *Xanthosoma* spp., con el objetivo de describir la diversidad cultivada y silvestre presente en el territorio costarricense y, determinar las relaciones taxonómicas entre las formas cultivadas y silvestres. Para esto se realizó 22 recolectas de materiales cultivados y 20 recolectas de plantas silvestres. Estos se compararon con 16 accesiones de bancos de germoplasma internacionales y dos mutantes por irradiación. Con todos estos materiales se conformó un banco de germoplasma. Estas plantas se micropropagaron *in vitro* con una metodología para tiquizque blanco y se sembraron en 10 plantas por accesión en bolsas de 50 L, y 20 plantas en campo abierto. Las plantas en bolsas se les aplicó AG₃ para inducir su floración, en dosis de 500 ppm para las formas con acumulación de antocianinas en el cormo, y 250 ppm para las demás. Se observó y describió las inflorescencias de las plantas tratadas con AG₃ y las plantas de campo que florecieron. Además, se describió la morfología vegetativa de los materiales sembrados en campo. Los datos obtenidos fueron analizados mediante taxonomía comparativa y análisis multivariado de componentes principales (CP) y de conglomerados. El tratamiento con AG₃ indujo la floración en el 35,18% de las accesiones, pero las inflorescencias fueron deformes o secas. El 45,45% de las accesiones de campo florecieron y sus inflorescencias fueron normales. Los análisis mostraron la alta diversidad disponible e indican que las formas del tiquizque denominadas moradas, tanto silvestres como cultivadas, pertenecen a la especie *X. mafaffa*, mientras que las formas blancas a *X. robustum*. Tres formas amarillas fueron separadas en tres especies: *X. atrovirens*, *X. caracu* y *X. sagittifolium*. Otras cuatro especies silvestres fueron confirmadas en territorio costarricense. La presencia de formas silvestres y cultivadas de *X. mafaffa* en Costa Rica, así como su alta diversidad morfológica presente indican que este país se encuentra en el centro de diversidad del cultivo y, posiblemente, en su centro de origen.

Palabras clave: *Xanthosoma*, SIG, floración, descripción, taxonomía, análisis multivariado.

2. Introducción

El tiquizque, cocoyam o yautía (*Xanthosoma* sp.) es un cultivo, que a pesar de ser considerado por la FAO como subutilizado o no atendido y uno de los menos estudiados en el mundo, es reconocido por poseer una gran importancia para la alimentación de millones de personas en lo áreas tropicales del mundo (Lebot 2009, Saborío 2007). Este es un cultivo americano precolombino, que fue dispersado por los indígenas por toda la cuenca del Caribe y gran parte de Suramérica (Montaldo 1991, Wilson 1984). Los comerciantes portugueses llevaron consigo este cultivo a sus colonias en África y Asia hace unos doscientos años, donde han remplazado parcialmente el cultivo de otras aráceas comestibles como *Alocasia macrorhiza* y *Colocasia esculenta* (León 1968). No obstante, este cultivo enfrenta problemas fitosanitarios que limitan su siembra y producción. El de mayor importancia a nivel mundial es el llamado “Mal Seco”, “enfermedad de Apolo”, “dry root rot” o “root rot disease” (Giacometti y León 1994).

Varias estrategias de control se han intentado contra esta enfermedad, pero poco se ha logrado, como es el caso del combate químico, cuyos costos son prohibitivos. Una alternativa para el control de esta enfermedad, que ha sido poco estudiada, es la resistencia natural a *P. myriotylum*, que no existe en las especies cultivadas, pero que podría presentarse en algunas variedades o especies silvestres del género *Xanthosoma*. No obstante, antes de poder utilizar los recursos genéticos con este propósito, es necesario conocerlos a nivel morfológico y genético. Los pocos estudios de las características morfológicas del cultivo han utilizado un reducido número de descriptores y no han profundizado en la determinación botánica (Mbouobda *et al.* 2007, Milián *et al.* 2001, Onokpise *et al.* 1999, Tambong *et al.* 1997, Torres *et al.* 2000), por lo que el valor de sus resultados es limitado para su aplicación al fitomejoramiento. Por otra parte, se han realizado dos trabajos con marcadores moleculares para determinar la diversidad genética en bancos de germoplasma de *Xanthosoma* cultivado (Offei *et al.* 2004, Schnell *et al.* 1999); no obstante, estos no han relacionado sus resultados con el grado de diversidad morfológica. Además de lo anterior, otro problema con relación al estudio de los recursos genéticos de este cultivo, es la falta de consenso sobre la identidad taxonómica de las

variedades cultivadas. O'Hair y Asokan (1986) indicaron que al menos 16 especies del género *Xanthosoma* han sido cultivadas en diversas regiones de América (y tal vez algunas aún lo son), pero la descripción taxonómica de estas es poco conocida, por lo que existe una gran confusión que no ha sido resuelta concretamente. Esta confusión incluso se extiende a la historia sistemática del género *Xanthosoma* (Nicolson 1975). La confusión o controversia principal sobre la taxonomía de las formas cultivadas de *Xanthosoma* se debe, en gran medida, a que algunos autores las han colocado a todas dentro de una misma especie, *X. sagittifolium* Schott, y se habla de un complejo de especies y variedades de alta diversidad (Giacometti y León 1994, O'Hair y Asokan 1986); sin embargo, tal afirmación se hizo sin criterios taxonómicos (Grayum 2003). Gonçalves (2011) ha realizado esfuerzos recientes por tener una clasificación moderna de las formas cultivadas, tanto las comestibles como las ornamentales, pero aun no han sido aplicados en la práctica.

La falta de información sobre el centro de origen de las formas cultivadas de *Xanthosoma* es también otro problema mayor, ya que sin esta información no se puede realizar un esfuerzo efectivo para estudiar la diversidad silvestre del cultivo. O'Hair y Asokan (1986) citan como centro de origen, para las formas cultivadas, a la cuenca de Río Orinoco en Venezuela, región de donde se dice originario *X. atrovirens*. Esta afirmación ha aumentado la confusión, pues esta especie es distinta a otras cultivadas, sus características están bien estudiadas y su área de dispersión natural está delimitada y no coincide con las de otras formas cultivadas de *Xanthosoma* (Ferreira-Jorge *et al.* 1986). Otros han indicado como el centro de origen a las islas del Caribe, basados en la diversidad cultivada (Schnell *et al.* 1999). En criterio de Vavilov (1926), el origen de las formas cultivadas de *Xanthosoma*, o al menos de algunas de ellas, podría encontrarse más bien en Centro América. Dado que Costa Rica se ubica en el centro de diversidad del cultivo (O'Hair y Asokan 1986), donde hay muchos cultivares y la presencia de cinco especies silvestres en el territorio nacional (Grayum 2003), se abre la posibilidad de que se estudie la variabilidad de estas plantas en relación a la resistencia a *P. myriotylum* y su potencial utilización en el mejoramiento genético de este cultivo.

El estudio ecogeográfico de los recursos genéticos, que incluye la obtención, clasificación y el análisis de la información geográfica sobre un taxon en una región determinada, es imprescindible para la conservación y utilización de sus recursos genéticos (Guarino *et al.* 2005). Aunado a esto, se debe realizar la descripción morfológica y el análisis multivariado de estos datos. Este tipo de estudios ha demostrado su utilidad para comprender la diversidad genética de las especies cultivadas, ya que permite el manejo de gran cantidad de datos de manera simultánea, además de determinar la variabilidad de los caracteres y los posibles agrupamientos de los genotipos (Franco e Hidalgo 2003, Pereira-Lorenzo *et al.* 2003). No obstante, no se ha realizado ningún esfuerzo de esta naturaleza en Costa Rica. La exploración y recolección de los recursos genéticos silvestres, así como la identificación taxonómica y la descripción morfológica son esenciales para lograr un mayor progreso en el mejoramiento genético del cultivo del tiquizque. Este estudio se planteó para realizar estas acciones, además de intentar comprender la diversidad observada, determinar la dispersión geográfica y determinar un posible centro de origen.

3. Materiales y Métodos

3.1 Recolección de material vegetal y cultivo

Se realizó una prospección de recursos genéticos del género *Xanthosoma* Schott en Costa Rica. Se recolectaron 22 accesiones cultivadas de tiquizque y 20 materiales silvestres en terrenos agrícolas con otros cultivos o en zonas marginales (Cuadro 2.1) durante el 2006. Los sitios determinados para la prospección de materiales silvestres se definieron con base en la información disponible en las desecatas preservadas en los herbarios del Instituto Nacional de la Biodiversidad (INBIO), de la Universidad de Costa Rica (USJ) y del Museo Nacional (CR). Los procedimientos de recolección se realizaron acorde a lo establecido por Bioversity International (antes Instituto Internacional para los Recursos Genéticos Vegetales) utilizando una hoja pasaporte de colecta (Guarino *et al.* 2005). Estas accesiones fueron sembradas en bolsas de un litro con suelo estéril a partir de secciones de corno y colocadas en invernadero. Los rebrotes fueron establecidos *in vitro* para su micropropagación de acuerdo con Saborío *et al.* (1998).

Cuadro 2.1. Accesiones recolectadas y de bancos de germoplasma utilizadas en el estudio.

Código	Género y especie¹	Nombre común	Origen²
Ta-01	<i>Xanthosoma caracu</i>	Tiquizque crema	Haití
Ta-03	<i>X. sagittifolium</i>	Tiquizque amarillo	Camerún
Ta-04	<i>X. sagittifolium</i>	Tiquizque amarillo	Camerún
Tb-01	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	San Carlos
Tb-02	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	La Fortuna, San Carlos, Alajuela
Tb-03	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	La Fortuna, San Carlos, Alajuela
Tb-04	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Pejibaye, Pérez Zeledón , San José
Tb-06	<i>X. caracu</i>	Blanca Viequera	Cuba-Puerto Rico
Tb-07	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Valle Azul, Upala, Alajuela
Tb-08	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco RO1054	Camerún
Tb-09	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Valle Azul, San Carlos, Alajuela
Tb-10	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco rayado 1	Río Grande de Térraba, Puntarenas
Tb-11	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	La Pinta, San Vito, Puntarenas
Tb-12	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	La Pinta, San Vito, Puntarenas
Tb-13	<i>X. dealbatum</i>	-	San Carlos, Alajuela
Tb-14	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	San Carlos, Alajuela
Tb-15	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	La Pinta, San Vito, Puntarenas
Tb-17	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Zapote, San José
Tb-19	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Veracruz, México
Tb-21a	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Islas Mauricio
Tb-21b	<i>X. atrovirens</i>	Silvestre mezclado	Ídem Tb-21a
Tb-22	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Camerún
Tb-23	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco pelotas	Nueva Segovia, Nicaragua
Tb-24	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Nueva Guinea, Nicaragua
Tb-26	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco rayado 2	Térraba, Puntarenas
Tm-01	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Pejibaye, Pérez Zeledón , San José
Tm-03	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Esparza, Puntarenas
Tm-04	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Río Claro, San Carlos, Alajuela
Tm-09	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	La Punta, San Vito, Puntarenas
Tm-10	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	San Pedro de la Tigra, San Carlos, Alajuela
Tm-12	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	El Futuro, San Carlos, Alajuela
Tm-13	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	La Lucha, San Carlos, Alajuela
Tm-17	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Camerún
Tm-18	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Islas Mauricio
Tm-19	<i>X. mafaffa</i>	Morado Apalí	Nueva Segovia, Nicaragua
Tm-21	<i>X. mafaffa</i>	Morado Peludo	Nueva Guinea, Nicaragua
Tm-22	<i>X. mafaffa</i>	Morado Masaya	Mercado Masaya, Nicaragua
Tm-23	<i>X. mafaffa</i>	Morado Nueva Guinea	Nueva Guinea, Nicaragua
Tm-24 ⁺	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado	Surepka, Bribri, Talamanca, Limón
Ts-03	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado silvestre	Talamanca, Limón
Ts-06* ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Zarcero, Alajuela
Ts-07* ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Zarcero, Alajuela
Ts-08 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Zarcero, Alajuela
Ts-09* ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Zarcero, Alajuela
Ts-10 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Zarcero, Alajuela
Ts-11 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Braulio Carrillo, Limón
Ts-12 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Cerros de Escazú, San José

Cuadro 2.1. Continuación.

Código	Género y especie ¹	Nombre común	Origen ²
Ts-13 ⁺	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado silvestre	Cerros de Escazú, San José
Ts-14M ⁺	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado silvestre	Muelle, San Carlos, Alajuela
Ts-14R ⁺	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Idem Ts-14M
Ts-15 ⁺	<i>X. dealbatum</i>	-	Orosí, Cartago
Ts-16* ⁺	<i>X. dealbatum</i>	-	Cartago, Orosí - Tapantí
Ts-18 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Tapantí, Cartago
Ts-19* ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Tapantí, Cartago
Ts-20 ⁺	<i>X. undipes</i>	Hoja pico de pata	Turrialba, Cartago
Ts-21* ⁺	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado silvestre	Turrialba, Cartago
Ts-23* ⁺	<i>X. mafaffa</i>	Tiquizque morado silvestre	Muelle de San Carlos, Alajuela
Ts-24 ⁺	<i>X. mexicanum</i>	-	Sede UCR, Turrialba, Cartago
Ts-27 ⁺	<i>X. wendlandii</i>	Comida de culebra	U Católica, Moravia, San José
Ts-29 ⁺	<i>X. dealbatum</i>	-	La Tigra, San Carlos, Alajuela
Mut 2-2	<i>X. robustum</i>	Tiquizque blanco	Material de laboratorio, mutante irradiado
Mut 5-5	<i>X. sagittifolium</i>	Tiquizque amarillo	Material de laboratorio, mutante irradiado

Notas: * Denota accesiones que no fueron sembradas para su estudio descriptivo. ⁺: Recolectas realizadas específicamente para este estudio. ¹. Identificación posterior al estudio. ². Origen internacional indicado por el país, de otra manera es colecta local.

Las accesiones recolectadas se incorporaron al Banco de Germoplasma de Tiquizque del Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas (LBP-CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR). Junto a las anteriores se estudiaron otras 16 accesiones recibidas de bancos de germoplasma internacionales y dos más que son mutantes del LBP-CIA obtenidas por irradiación, las cuales se encontraban en cultivo *in vitro* en dicho laboratorio.

De un total de 60 accesiones incluidas en el Banco de Germoplasma, se seleccionaron 53 accesiones para sembrarse en campo a partir de las plántulas obtenidas en cultivo *in vitro*, excepto para las accesiones Tb-26 y Ts-29, las cuales fueron reproducidas a partir de hijos de plantas adultas recolectados en campo y sembradas directamente en el suelo, ya que estas dos fueron las últimas recolectas realizadas para este estudio. Estas plántulas propagadas *in vitro* fueron sacadas de los frascos, se les lavó las raíces y se sumergieron en una solución de Agrimycin® (Pfizer) 2 g/L, Benlate® (Dupont) 2 g/L y Raizal® (Grupo Químico Mexicano S.A de C.V.) 1 g/L durante 30 segundos, luego fueron sembradas en bandejas de 72 agujeros con un sustrato compuesto por suelo y fibra de coco molida, en proporción de 2:1, previamente esterilizado en autoclave durante 45 minutos. Estas

plántulas fueron colocadas para su aclimatización en invernadero y protegidas con una cobertura plástica transparente por 22 días, la cual fue retirada paulatinamente y les aplicó riego cada dos días por aspersión. Durante esta etapa a las plántulas se les aplicó fertilización foliar semanalmente con 2 g/L de nitrato de amonio y 2 ml/L de Multiminerales® (SERACSA), alternado con una formulación soluble 20:20:20 (NPK) y micronutrientes a 5 g/L (Evergreen). A los 45 días las plantas fueron transferidas a un invernadero de malla con un 60 % de sombra localizado en la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit M. (EEAFBM) de la UCR en Alajuela, a una altura de 835 msnm, y sembradas en bolsas con 1 L de suelo de la zona y fertilizadas con 10 g por planta de fertilizante granulado 10:30:10 (N:P:K). Luego de dos meses en la bolsa, las plántulas fueron transferidas al campo y sembradas sobre lomillos altos distanciados 1,6 m, con una distancia de 0,6 m entre plantas. El manejo agronómico se realizó acorde a las prácticas comunes para el cultivo del tiquizque en Costa Rica (Torres *et al.* 2000). El período de siembra en campo comprendió de inicios de octubre del 2006 a mediados de julio del 2007.

3.2 Inducción floral y estudio de características florales

Luego de 35 días de haberse transferido las plantas a bolsas de 1 L con suelo, se trasplantaron 10 plantas de cada accesión a bolsas plásticas de 40 x 50 cm (50 L) con suelo y cascarilla de arroz en una proporción 1:1, y se colocaron sobre el suelo con cobertura plástica a pleno sol. La inducción a la floral se realizó con aplicaciones de una solución de ácido giberélico (AG₃) en agua adicionado con 0,05 % de Tween 20. La aplicación se realizó a las plantas en bolsas de 50 L, aplicando un volumen suficiente para cubrir la lámina de las hojas y que escurriera por los pecíolos hasta el tallo. Se realizaron dos aplicaciones: la primera a las 10 semanas de trasplante a la bolsa de 50 litros y la segunda dos semanas más tarde. La concentración de AG₃ utilizada para las accesiones de identificadas como tiquizque morado fue de 500 ppm y de 250 ppm para el resto de las accesiones, según lo indicado por Saborío y colaboradores (2000). Las plantas fueron observadas cada dos semanas para determinar el tiempo de respuesta al tratamiento inductor, el número de inflorescencias y la morfología general de la inflorescencia. Además, se realizaron observaciones morfológicas con la misma frecuencia a las

accesiones que se sembraron en el campo. Los caracteres estudiados se enumeran en el Cuadro 2.2, con base en base la lista de descriptores para *Xanthosoma* del IPGRI (Thompson 1989).

Cuadro 2.2. Caracteres florales estudiados en las accesiones de tiquizque que florecieron de manera natural.

Descriptores	Abreviatura
<u>Cualitativos:</u>¹	
Color interno base espata	CoIBaEsp ²
Color externo base espata	CoEBaEsp ²
Color interno lámina espata	
Color externo lámina espata	
Color interno constricción espata	
Color externo constricción espata	CoECoEsp ²
Color flores femeninas	
Color flores masculinas (presencia antocianinas)	CoFloMa ²
Forma estigma (domo, plana)	
Relación estigmas (coherente, separada, intermedio)	
Estaminodios estériles mono/dimórficos	
Partes estéril acinturada	
Color flores estériles	CoFloEs ²
Color interno flor	
<u>Cuantitativos:</u>	
No. filas flores femeninas	NFFloFe
No. filas flores masculinas	NFFloMa
No. anteras flor masculina	NAntFMa
No. filas flores estériles	NFFloEs
Longitud sección femenina (cm)	LoSeFe
Longitud sección estéril (cm)	LoSeEs
Longitud sección masculina (cm)	LoSeMa
Longitud pedúnculo (cm)	LoPed
Longitud base espata (cm)	LoBaEsp

Notas: ¹. Caracteres cualitativos transformados en presencia/ausencia (1/0) de antocianinas para análisis multivariado.

3.3 Evaluación de caracteres morfológicos vegetativos

Los caracteres vegetativos se seleccionaron con base en su uso práctico para describir las especies y variedades (Cuadro 2.3) a partir de la lista de descriptores para *Xanthosoma* (Thompson 1989). Se describieron los caracteres cualitativos y las variables cuantitativas

en diverso en al menos cinco plantas y, en el caso de las segundas, sus valores fueron promediados para el análisis. Todas las características se evaluaron a los nueve meses después de la siembra, excepto el número de hijos brotados y la producción mensual de hojas, las cuales fueron evaluadas entre el tercer y noveno mes después de la siembra en campo. Las variables relacionadas con la longitud de la lámina foliar o del pecíolo (LongPe, PropVai, LongLob, LongHoj, AnchHoj, LongVen, DesnVenBa, NHojMes) (Cuadro 2.3) fueron medidas en una hoja joven por planta completamente expandida, correspondiente a la tercera o cuarta después de la hoja bandera. La longitud de la lámina foliar (LongHoj) y de los lóbulos (LongLob) fue medida según al sistema internacional utilizado para la familia Araceae (Croat 1985).

3.4 Análisis de los datos

a partir de una comparación de características florales y vegetativas con la literatura existente y con los íconos de Schott y con la colaboración del Dr. Eduardo Gonçalves Gomes (Universidad Católica de Brasilia, Brasil, actualmente en el INHOTIM, Bello Horizonte, Brasil), se realizó la identificación específica de las accesiones comerciales y silvestres. Los datos de localización geográfica de las accesiones recolectadas fueron digitalizados y cartografiados con el programa ArcView GIS v. 3.3 (ESRI 2002). Los descriptores seleccionados para el análisis multivariado fueron los que presentaron variabilidad y que no resultaron colineales con otros (Johnson 1998). Las características cualitativas para el análisis multivariado fueron codificadas como ausencia (0) o presencia (1) del carácter, siguiendo lo recomendado por Kaufman y Rosseuw (1990). Algunos caracteres cualitativos fueron modificados como proporciones para generar variables sintéticas para su análisis multivariado. Estos datos fueron sometidos al análisis de componentes principales (CP) utilizando el procedimiento PRINCOMP de SAS/STAT 9.1 (SAS Institute, 2004), con los valores estandarizados.

Cuadro 2.3. Descriptores vegetativos estudiados en las accesiones de *Xanthosoma* sembradas en campo.

Descriptores	Abreviatura
<u>Cualitativos:</u>	
Estructura subterránea lateral (presencia/ausencia) ^{1,2}	
Presencia estructuras subterráneas laterales	EstrSub
Crecimiento sobre el suelo: Presencia tallo sobre el suelo ^{1,2}	CreSuel
Tipo de crecimiento (erecto o reclinado) ¹	CreErec
Color cormo central y cormelos: Presencia posibles carotenos ^{1,2}	ColorCa
Presencias antocianinas ^{1,2}	ColorAnt
Forma lóbulos	
Orientación de la hoja	
Forma de la vena colectora	
Forma corte pecíolo	
Color general del pecíolo	
Color vaina del pecíolo	
Color lámina superior	
Color margen de la hoja	
Ángulo vena basal	
Ángulo venas primarias	
Forma cormelos	
Cormelos fuertemente unidos a la planta ²	UnionCor
Color externo cormelos o estolones	
Color interno cormelos o estolones	
<u>Cuantitativos:</u>	
Diámetro tallo sobre el suelo (cm)	DiamTall
Longitud pecíolo (cm)	LongPe
Longitud de la vaina del pecíolo (cm):	
Proporción longitud vaina/largo pecíolo ¹	PropVai
Longitud lóbulos posteriores de la hoja (cm)	LongLob
Longitud lámina frontal de la hoja (cm)	LongHoj
Ancho hoja (cm)	AnchHoj
Proporción ancho/longitud total hoja ¹	PropAnc
Ancho de sinuo de los lóbulos (cm)	
Longitud vena basal (cm)	LongVen
Desnudez vena basal (cm)	DesnVeBa
No. pares venas	NParVen
No. hojas desarrolladas por mes (promedio 7 meses)	NHojMes
No. hijos brotados	Nhijos
Longitud tallo (cm)	LongTall
No. total cormelos:	NCorm
Proporción (en número) cormelos gran tamaño (>300 g) ¹	PropCorG
Masa total cormelos (kg):	
Masa vástago principal de la planta (kg):	
Masa hijos brotados (kg):	
Masa cormo central (kg):	
Proporción masa aérea respecto al total ¹	PropMA
Proporción masa cormo central respecto al total ¹	PropCC
Proporción masa cormelos respecto al total ¹	PropCorm

Notas: ¹. variables sintéticas. ². Variables codificadas como presencia/ausencia (1/0).

Se determinó la significancia estadística del aporte de cada descriptor a cada CP por medio de la regla de Jolliffe (2002), indicándose como + o - (acorde a su signo) los autovalores cuyo valor absoluto fue mayor que un medio del valor absoluto máximo entre los autovalores de las variables en cada CP. Se seleccionaron los caracteres con aporte significativo para los CP que tuvieron un autovalor superior a 1 ($\lambda_k > 1$), y se calculó la distancia generalizada de Mahalanobis entre las accesiones estudiadas para un análisis gráfico. Además, se realizó un análisis de conglomerados mediante el método no pareado de agrupamiento con la media aritmética (por sus siglas en inglés UPGMA) y se generó un árbol de relaciones jerárquicas, mediante los procedimientos CLUSTER y TREE de SAS/STAT 9.1 (SAS Institute 2004), respectivamente.

4. Resultados y discusión

4.1 Recolección y distribución de material vegetal

los hallazgos de los botánicos preservados en los herbarios nacionales (InBio, USJ, CR) indican una mayor actividad de prospección en la zona central del país y la vertiente pacífico, con colectas determinadas taxonómicamente por los colectores como *Xanthosoma dealbatum* Grayum, *X. mexicanum* Liemb., *X. undipes* (K. Koch & Bouché) K. Koch, *X. wendlandii* (Schott) Schott y, otras cuya terminación posterior al inicio del estudio mostró que se trataban de *X. mafaffa* Schott. Las recolectas de *X. mexicanum* y *X. wendlandii* mostraron el mayor ámbito espacial de distribución, ya que se les ha encontrado en todas las regiones del país, pero principalmente por debajo de 1000 m sobre el nivel del mar (msnm). *X. undipes* se le ha hallado por encima de los 800 msnm y poco más de los 2000 msnm, principalmente en la Cordillera Volcánica Central y la Cordillera de Talamanca. Por su parte, el conjunto de colectas que posteriormente se agruparon en *X. mafaffa*, se les encontró desde los cero hasta los 1500 msnm, en casi todas las regiones, con excepción de la Región Chorotega. El menor número de colectas botánicas realizadas son para *X. dealbatum*, del cual se encontraron especímenes en la zona del Pacífico Sur de Costa Rica. Con esta información, más el conocimiento de la distribución de las plantaciones comerciales, se decidió realizar la prospección de material silvestre y cultivado.

La recolecta de las accesiones de *Xanthosoma* de Costa Rica (Cuadro 2.1), tanto silvestres como cultivadas, fue realizado en la Depresión Tectónica Central (parte central del país, provincias de San José, Alajuela, Cartago y Heredia), la Región Huetar Norte (llanuras del norte de la vertiente del Caribe, provincia de Alajuela), la Región Huetar Atlántica (zona costera del Caribe, provincia de Limón) y Región Brunca (Pacífico Sur, provincia de Puntarenas) (Figura 2.1). En viajes de campo a la Región Chorotega (Guanacaste) no se observó mayor diversidad de especies silvestres, sólo se halló algunos parches de *X. wendlandii*, tan poco se encontraron plantaciones de variedades comestibles. Las formas cultivadas se hallaron principalmente en las regiones Huetar Norte y Atlántica, así como en la Brunca, donde la precipitación promedio anual supera los 2500 mm (IMN 2012). La distribución de los materiales cultivados es coincidente con los requerimientos de humedad de las especies cultivadas, las cuales generalmente son producidas en zonas tropicales húmedas (Lebot 2009). A pesar del esfuerzo realizado por cubrir la mayor parte del país, la recolecta realizada no se considera exhaustiva, por lo que es importante ampliarla a futuro, principalmente en la Zona Huetar Norte y la Zona Brunca.

Los materiales de *X. mexicanum*, *X. wendlandii* y *X. undipes* recolectados se encontraron tanto en condiciones de sombra como de sol en un mismo sitio, con frecuencia en potreros, orillas de caminos y en medio de otros cultivos. No obstante, *X. undipes* fue recolectado en zonas de vida (de Holdridge) denominadas bosque muy húmedo montano y muy húmedo montano alto, o sus remantes, donde la nubosidad es común gran parte del año (IMN 2012, Hartshorn 1991), por lo que las plantas no se exponen a condiciones de luz directa por mucho tiempo.

Los materiales recolectados y los obtenidos de bancos de germoplasma internacionales se identificaron con códigos de accesión para el Banco de Germoplasma de Tiquizque del LBP-CIA, subdivididos inicialmente en cuatro grupos con un prefijo: Ta para las accesiones con color del corno amarillo; Tb para los tiquizques blanco; Tm para los tiquizques morados; Ts para las especies silvestres (Cuadro 2.1). Esto sirvió para una clasificación inicial por falta de claridad taxonómica del cultivo. Además, debido a su origen, a los cultivares mutantes se les asignó el prefijo Mut. A tres materiales traídos del

exterior se les signó dentro de los Ta, mientras que los tiquizques blancos o Tb fueron 14 recolectados en el país y 7 importados, mientras que para los tiquizques morados Tm, la cantidad representaba 8 y 6, respectivamente. Las 20 accesiones Ts fueron colectadas en el país, 10 fueron identificadas como *X. undipes*, cinco como *X. mafaffa* (*a posteriori*), tres como *X. dealbatum*, *X. mexicanum* y *X. wendlandii* una cada especie.

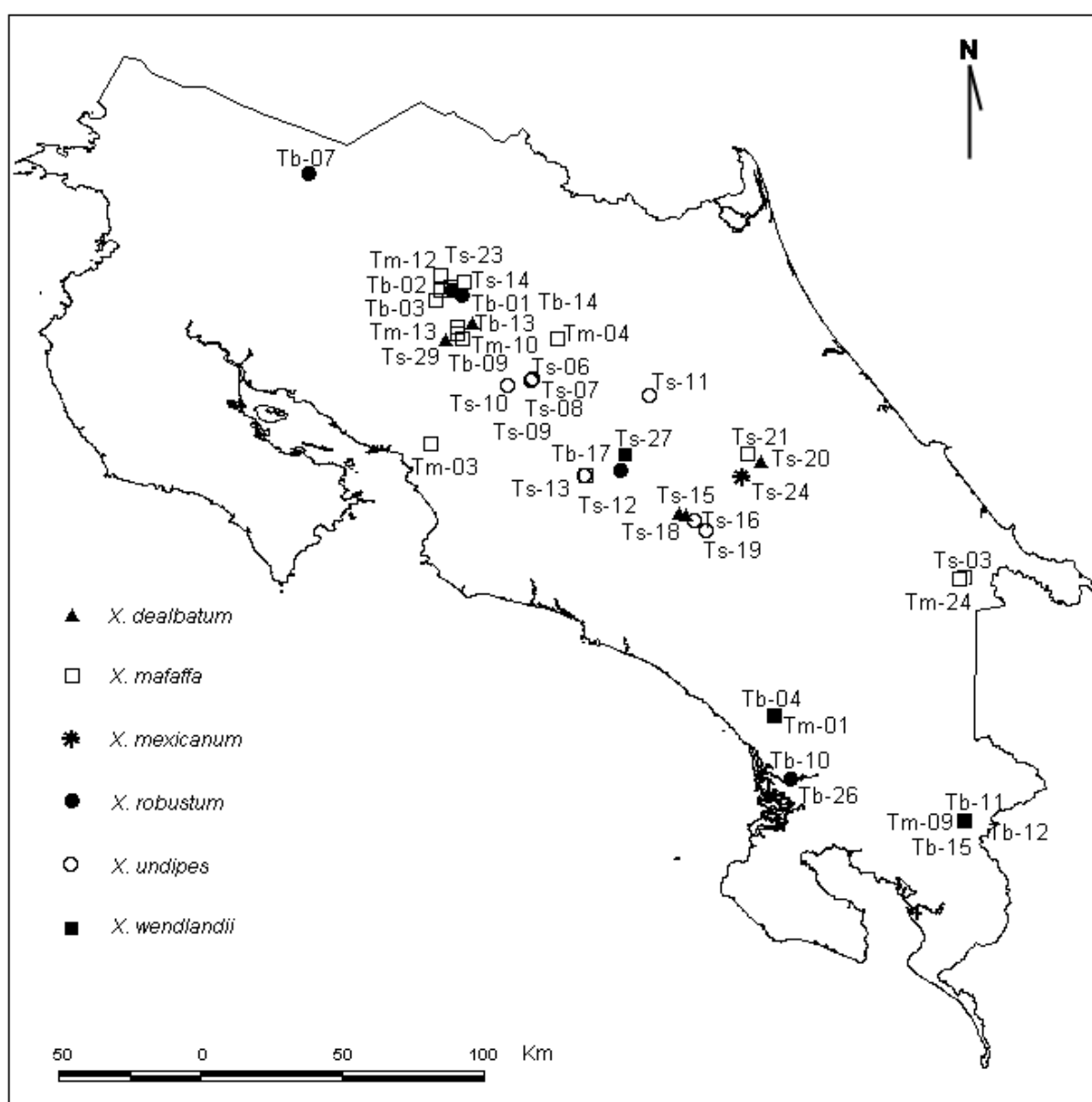


Figura 2.1. Distribución geográfica de las accesiones del BGT del LBP-CIA-UCR recolectadas en Costa Rica. Codificación de las accesiones en el Cuadro 2.1.

El mayor esfuerzo de recolecta se realizó con los materiales cultivados, seguido de los materiales silvestres semejantes, *X. undipes* y *X. mafaffa*, seguido por *X. dealbatum* que se halló en pocos lugares, mientras que *X. mexicanum* y *X. wendlandii* se consideraron de menor importancia debido a su reducido tamaño (plantas recolectadas inferiores a los 70 cm) y ausencia de cormelos.

Todos los materiales recolectados fueron establecidos *in vitro* exitosamente mediante la siembra de ápices. Se regeneraron plantas que luego fueron micropropagadas. Luego de nueve meses de micropropagación, se obtuvo 30 o más plantas de cada accesión, que se utilizaron para los ensayos. Este largo periodo de tiempo requerido para la propagación indica la necesidad de desarrollar estudios específicos sobre la micropropagación del tiquizque y sus parientes silvestres para obtener mayores cantidades de plantas para la investigación, el mejoramiento genético y la producción comercial. Cuando estas plantas fueron aclimatizadas para su siembra en campo no se presentó mortalidad, ni al trasplantarlas a la bolsa de un litro o al inicio del cultivo en bolsas de 50 L o en campo.

4.2 Floración de materiales

Las inflorescencias de *Xanthosoma* son polinizadas por escarabajos (Chouteau *et al.* 2008, García-Robledo *et al.* 2005, Goldwasser 2000), lo cual implica adaptaciones morfológicas que favorezcan a sus polinizadores, lo cual generó un síndrome de polinización con características específicas (Fenster *et al.* 2004). Las especies de la familia Araceae que son polinizadas por escarabajos se caracterizan porque tienen un espádice con flores unisexuadas dispuestas en zonas específicas, tienen un número mediano de flores femeninas en la base, producen un alto volumen de polen y su espata es envolvente (Chouteau *et al.* 2008). Además de estas características, las inflorescencias del género *Xanthosoma* poseen un espádice que contiene flores femeninas en la base con estigma húmedo, una zona intermedia conformada por estaminodios (flores masculinas) estériles y la sección conformada por estaminodios fértiles hacia el ápice y de mayor tamaño que las anteriores (Grayum 2003, Chouteau *et al.* 2008). Además, sus inflorescencias son

protogíneas (desarrollo de las flores femeninas primero), las flores femeninas son fértiles por uno o dos, y los escarabajos son atraídos por la abundante sustancias volátiles durante la noche, cuya es producción acelerada por un metabolismo termogénico. No obstante, cada especie posee características específicas. En este estudio se aplicó AG₃ para inducir la floración, ya que no todas los cultivares florecen naturalmente y la producción de flores es imprescindible para el mejoramiento genético, pero además, la descripción morfológica de las inflorescencias era necesaria para la determinación taxonómica de cada accesión.

Se observó floración sólo en el 36,5% (19/52) de las accesiones sembradas en bolsas de 50 L (se sembraron todas excepto la Tb-26 y Ts-29) y tratadas con AG₃. La accesiones que florecieron se listan en el Cuadro 2.4. La mayoría de las accesiones cultivadas que lograron florecer en este ensayo (17/19) iniciaron floración a las 28 semanas luego de su siembra esta la bolsa y 18 después de la aplicación del AG₃. Estas produjeron solo una flor por planta, en raros casos dos flores, cuando lo común son dos a cuatro, dependiendo de la especie (Grayum 2003). La respuesta de floración fue errática, ya que no todos los individuos de una misma accesión florecieron a un mismo tiempo, sino que lo hicieron en diferentes momentos a lo largo de un periodo de dos a cuatro semanas. Solo en una accesión se logró obtener el 100 % de la inducción. A pesar de utilizarse dosis de ácido giberélico recomendadas por Saborío *et al.* (2000), muchas accesiones no florecieron, lo cual muestra una gran variación entre estas que podría tener un fuerte componente genético que determina la sensibilidad al AG₃, tanto en la dosis como en el momento adecuado para realizar la aplicación. Alamu y McDavid (1978a y b) informaron la inducción exitosa de la floración en *Xanthosoma* spp. cultivado a partir de tratamientos con AG₃, en las que observaron tiempos a floración entre 15 y 22 semanas de la aplicación del AG₃, dependiendo de la variedad y del momento en que se aplicó el tratamiento. Lo observado por estos autores ocurrió en un ámbito de tiempo traslapado a los encontrados en el presente estudio, aunque sus plantas iniciaron y terminaron la floración más temprano. El efecto de las giberelinas sobre la floración de las aráceas es ampliamente conocido, y se utiliza de manera frecuente en la inducción de floración en distintos géneros de aráceas ornamentales (Henny 1995). En *Aglaonema commutatum* 'Treubii' (Henny 1983), *Anthurium* (Henny y Hamilton 1992), *Syngonium podophyllum* 'White Butterfly' (Henny *et*

al. 1999), *Philodendron* 'Black Cardinal' (Chen *et. al* 2003) y *Zantedeschia* spp. (Naor *et al.* 2005), todas pertenecientes a la familia Araceae, la floración se logró inducir mediante la aplicación foliar de AG₃, y para estos cultivos el porcentaje de plantas floreadas está correlacionado con la dosis aplicada, pero el tiempo a floración es independiente de este factor, por lo que se observó floraciones uniformes cuando los tratamientos se aplican a un mismo tiempo. Los resultados obtenidos con *Xanthosoma* spp. en este estudio indican que el tiempo fue el mismo en casi todos los genotipos, exceptuando en Tm-03 y Tm-04, lo cual es coincidente con observaciones en las especies ornamentales de la misma familia. En cuanto a la irregularidad de la floración y su ausencia total muchos materiales sembrados, estos fenómenos podrían deberse que no se aplicó la dosis más adecuada, pero podrían también deberse a la falta de crecimiento vigoroso de las plantas, lo que conlleva a la falta de fotoasimilados para el desarrollo de la inflorescencia. En vitroplantas de *Zantedeschia* spp. que se les indujo a floración mediante la aplicación de giberelinas, se observó el aborto de la inflorescencia en etapas posteriores del desarrollo de la planta, debido a la incapacidad de la planta para sostener el crecimiento de la inflorescencia (Naor *et al.* 2004).

Aunque no se conoce el mecanismo específico mediante el cual las giberelinas inducción de la floración en aráceas, este ha sido estudiado en especies modelo (Horvath 2009). En *Arabidopsis thaliana* la floración dependiente de fotoperiodo (días cortos) es inducida en presencia de giberelinas endógenas, por lo que este constituye una señal imprescindible para su expresión (Wilson *et al.* 1992). Esta inducción por giberelinas endógenas está mediado por señales ambientales (días cortos) que activan cascadas de señales y redes de regulación (Moon *et al.* 2003, Blazquez *et al.* 1998) que se han encontrado conservados en plantas de diversos grupos taxonómicos mayores (Horvath 2009).

En todas las plantas inducidas a floración con AG₃ se observó deformaciones de la espata (entreabierta o doble), falta de desarrollo de la sección masculina y ausencia de polen maduro, así como muerte temprana de la inflorescencia. Las deformaciones han sido informadas previamente para plantas tratadas con AG₃ de *Colocasia esculenta* var. *antiquorum* y var. *esculenta* (Alamu y MacDavid 1978a), así como para plantas tratadas

con este regulador de *Xanthosoma* spp. (Saborío *et al.* 2000, Jordán-Molero 1979). De igual manera que para la ausencia completa de la floración, la falta de fotoasimilados suficientes pudo causar problemas de desarrollo de las inflorescencias que devino en los problemas antes indicados. Otra posible explicación para las deformaciones es que el tratamiento con AG₃ pudo alterar el balance endógeno de los demás reguladores, lo cual conllevó a la disparidad de señales que controlan el desarrollo de las inflorescencias.

Cuadro 2.4. Accesiones sembradas en bolsas de 50 L que florecieron inducidas por la aplicación de AG₃.

Código	N° plantas supervivientes	N° plantas floreadas	% plantas floreadas	Semanas a floración
Tb-01	4	2	50	18-20
Tb-02	10	9	90	18-20
Tb-03	10	5	50	18-20
Tb-04	10	5	50	18-20
Tb-06	10	6	60	18-20
Tb-07	10	7	70	18-20
Tb-08	7	3	42,9	18-20
Tb-09	10	4	40	18-20
Tb-11	10	2	20	18-20
Tb-13	5	5	100	18-20
Tb-15	10	2	20	18-20
Tb-19	8	3	37,5	18-20
Tb-22	9	1	11,1	18-20
Tm-03	10	4	40	24-26
Tm-04	10	6	60	24-26
Tm-21	7	1	14,3	18-20
Ts-03	10	1	10	18-20
Ts-15	9	1	11,1	18-20
Ts-20	10	2	20	18-20

Nota: se indican solo las accesiones que florecieron.

Otro problema que pudo afectar la floración de las plantas sembradas en bolsas de 50 L fue el ataque de mal seco, el cual destruye el sistema radicular de las plantas y consecuentemente limita el desarrollo de las plantas. Esto causó que en varios genotipos se perdieron plantas. Probablemente la contaminación estaba presente en el suelo utilizado, ya que este no se pudo esterilizar, debido al gran volumen necesario, o provino del agua de riego, la cual fue tomada de un canal superficial que recorre la Estación Fabio Baudrit.

4.3 Floración de las accesiones sembrados en campo

Se observó que varias plantas sembradas en campo, de diferentes accesiones, florecieron entre los meses de mayo y julio, entre 32 y 36 semanas después de la siembra, sin la necesidad de inducción por medio de AG₃ (Cuadro 2.5). Esto incluye todas las accesiones sobrevivientes clasificadas como Ta, parte de las Tb y Tm, para un 36,2% de las accesiones comerciales (47) y un 72,7% de las Ts que sobrevivieron (11). Esto es poco común, según Alamu y McDavid (1985), pues el único cultivar que observaron con floración natural entre los que manejaban en Trinidad y Tobago fue el 'Bagatelle', el cual inició floración nueve meses después de la siembra de las semillas. Jordán-Molero (1979) halló que la variedad Kelly floreció de manera frecuente, mientras que Blanca del País, Vinola y Rascana lo hicieron de manera esporádica e irregular entre plantas. Volin y Zettler (1976) fueron los primeros en informar sobre la floración de *Xanthosoma* y la producción de semillas a partir del cruce de varios clones de *X. caracu* que florecieron naturalmente, y lograron un nueve por ciento de floración en la progenie entre los 7 y los 10 luego del trasplante. Esta reducción o falta de la floración natural se supone es derivada de la selección y propagación vegetativa realizada en el pasado por los pueblos indígenas y los agricultores, quienes favorecieron variedades con una mayor colocación de recursos en la formación de cormelos que en la floración, pero podría deberse a que la floración natural requiere de más tiempo del que se deja el cultivo en el campo (nueve meses), por lo que en este estudio como en otros, la floración no se llega a observar o es irregular. Por otra parte, la diversidad de los orígenes geográficos de las accesiones sembradas implica diferencias en las condiciones ecológicas óptimas para el desarrollo de las plantas. La producción de flores en las accesiones de especies silvestres sembradas en campo se considera normal (Ts-03, Ts-14M, Ts-14R, Ts-15, Ts-20, Ts-24, Ts-27 y Ts-29, Cuadro 2.5), ya que se les encuentra frecuentemente con flores en su estado natural (Grayum 2003). No obstante, aunque estas accesiones florecieron en campo, no fue así con la aplicación de AG₃.

Cuadro 2.5. Floración natural de las accesiones del BGT del sembradas campo.

Código ¹	No. Plantas	Porcentaje de plantas floreadas	No. inflorescencias promedio	Semanas a floración ²
Ta-01	8	100	3	36-38
Ta-03	6	83,3	2	36-38
Ta-04	11	54,5	2	36-38
Tb-09	7	42,9	1-2	36-38
Tb-11	12	100	2,1	28-30
Tb-12	16	75	1,9	28-30
Tb-14	19	57,9	1,5	28-30
Tb-17	20	10	1-2	36-38
Tb-22	18	11,1	1-2	36-38
Tb-23	19	78,9	2,5	28-20
Tm-01	18	5,6	1-2	36-38
Tm-03	13	7,7	1-2	36-38
Tm-04	18	5,6	1-2	36-38
Tm-09	8	25	1-2	36-38
Tm-17	8	37,5	1-2	36-38
Tm-22	3	66,6	2,5	22-24
Tm-24	7	85,7	4,5	22-24
Ts-03	17	100	4,2	28-30
Ts-14M	10	20	1-2	36-38
Ts-14R	8	25	1-2	36-38
Ts-15	18	100	1,6	32-34
Ts-20	14	100	1,5	28-30
Ts-24	14	100	1	14-16
Ts-27	8	50	1	12-14
Ts-29	2	50	1	28-30

Notas: ¹. Se indican solo las accesiones floreadas naturalmente.

². Periodo en el cual la mayoría de las plantas florecieron.

Entre todas las accesiones sembradas, pocos fueron los casos en los que se observó un 100% de floración en las plantas de cada accesión, a pesar de que fueron micropropagadas, debido posiblemente a variaciones individuales en las condiciones de cultivo. La morfología floral en este caso fue normal, con espatas completamente envolventes, porciones femeninas, estériles y masculinas completamente desarrolladas y con producción de polen, acorde a lo descrito para la morfología floral de *Xanthosoma* Schott (Gonçalves 2011, Grayum 2003, O'Hair y Asokan 1986). El inicio de floración fue más rápido en las accesiones silvestres Ts-24 y Ts-27, mientras que muchas accesiones cultivadas iniciaron floración después de las 36 semanas de sembradas, cuando se cosechó las plantas. Por esto se logró contar con mayor exactitud la cantidad de flores producidas por planta en las

accesiones de floración más temprana, que en las de floración más tardía, para las cuales los valores del Cuadro 2.5 corresponden a una estimación.

4.4 Análisis multivariado de los descriptores florales

Las características descriptivas de las inflorescencias se evaluaron en una o dos inflorescencias presentes en las plantas de campo (Cuadro 2.6). El análisis multivariado mediante componentes principales (CP) de estos resultados mostró que el 76% de la variabilidad de 15 distintos caracteres se agrupó en cuatro CP, todos con un autovalor superior a 1 (Cuadro 2.7).

El principal resultado de este análisis de CP es la separación a lo largo del CP 1 (Prin1) de las accesiones de tiquizque morado y semejantes (incluyendo a Tb-09 y Ts-03) del resto de las accesiones (Figura 2.2). El primer CP incluye variación significativa de casi todos los descriptores, con un 45% de la variación total, lo que significa que la separación de las accesiones moradas del resto fue determinada por múltiples caracteres florales. Otras accesiones que se pueden distinguir del resto en el CP 1 son Ts-20, Ts-24 y Ts-27, todas de accesiones silvestres. Los CPs 2 y 3 tienen menos descriptores que les aportan variabilidad, pero se destaca en ambos el color interno de la base de la espata, el número de filas de flores femeninas y el número de filas de flores estériles, en contraposición con el primer CP. Además, el CP 2 contiene variabilidad de la longitud de la sección femenina y del número de filas de flores masculinas. El cuarto CP refleja la variación en el color interno de la espata, el número de filas de flores femeninas y el número de estambres de las flores masculinas. La tendencia del número filas de flores femeninas y masculinas indica una correlación de estos dos caracteres, pero que es inversa al número de flores estériles, por lo que el patrón morfogénico de estas secciones es complejo y podrían ser independientes. Es de destacar que la separación espacial entre las accesiones indica que estas son distintas entre sí y no son repeticiones.

Cuadro 2.6. Descriptores florales observadas en plantas que florecieron espontáneamente en el campo.

Código¹	Longitud sección femenina (cm)	Longitud sección estéril (cm)	Longitud sección masculina (cm)	Longitud pedúnculo (cm)	Longitud base espata (cm)	Longitud lámina espata (cm)	Color interno base espata	Color externo base espata
Ta-01	4,0	4,5	14,5	40	10,5	18,0	verde claro	verde
Ta-03	4,0	5,0	11,0	35	10,0	20,5	verde	verde
Ta-04	3,5	4,0	11,0	40	9,5	16,5	verde claro	verde
Tb-09	4,5	6,0	19,5	60	11,0	24,0	verde claro	verde rosado
Tb-11	2,5	3,5	9,0	40	9,0	18,5	verde claro	verde claro
Tb-17	4,5	4,0	11,5	60	8,5	20,0	verde claro	verde
Tb-22	3,0	4,5	8,5	45	9,5	15,0	verde	verde
Tb-23	3,0	4,5	9,5	45	8,0	16,5	verde claro	verde
Tm-01	5,0	6,0	13,5	50	11,0	19,5	rosado pálido	verde rosado
Tm-03	4,0	6,0	15,0	50	9,0	29,0	rosado pálido	verde
Tm-04	4,0	6,0	13,5	50	10,0	18,0	rosada	verde
Tm-09	3,5	6,5	12,5	60	19,5	27,0	rosado pálido	verde
Tm-17	3,8	6,5	21,5	40	12,0	29,0	rosado pálido	verde rosado
Tm-22	4,0	7,0	14,5	60	13,0	19,0	rosado pálido	verde rosado
Tm-24	3,5	5,5	12,5	40	10,0	25,5	rosado pálido	verde rosado
Ts-03	4,0	8,0	16,0	50	11,5	20,0	verde claro	verde rosado
Ts-14M	4,0	6,0	13,5	60	11,0	18,0	verde claro	verde rosado
Ts-14R	3,0	4,5	10,0	50	9,0	16,0	blanco	verde
Ts-15	5,5	3,0	11,5	35	8,0	17,5	verde	verde
Ts-20	2,5	4,0	9,5	25	7,0	13,0	verde	verde
Ts-24	2,5	4,8	7,0	20	7,0	12,0	violeta	verde
Ts-27	2,5	2,5	11,0	54	6,5	13,0	violeta	verde

Nota: ¹. Acciones con los datos completos.

Cuadro 2.6. *Continuación.*

Código	Color interno lámina espata	Color externo lámina espata	Color interno constricción espata	Color externo constricción espata	No. filas flores femeninas	Relación estigmas	No. filas flores masculinas	Color flores masculinas
Ta-01	blanco	blanco	blanco	verde claro	25	coherente	51	crema
Ta-03	blanco	blanco	verde claro	verde claro	31	separados	51	crema
Ta-04	blanco	blanco	verde claro	verde claro	24	separados	46	crema
Tb-09	blanco	crema rosado	crema	rosado	30	coherentes	63	rosada
Tb-11	crema	crema	crema	crema	18	coherentes	42	crema
Tb-17	crema verdoso	crema verdoso	blanco	blanco	19	coherentes	37	crema
Tb-22	crema verdoso	crema verdoso	verde claro	verde claro	25	coherentes	21	crema
Tb-23	crema	crema	crema	crema	25	coherentes	46	crema
Tm-01	crema	rosado	blanco verdoso	verde rosado	26	coherentes	36	crema
Tm-03	blanco	crema verdoso	blanco verdoso	verde rosado	24	coherentes	43	crema
Tm-04	blanco	crema rosado	blanco verdoso	verde rosado	24	coherentes	45	crema rosado
Tm-09	blanco	crema rosado	blanco verdoso	verde rosado	23	coherentes	46	crema rosado
Tm-17	crema	crema rosado	blanco verdoso	verde rosado	20	coherentes	62	rosado
Tm-22	crema rosado	crema rosado	blanco verdoso	verde rosado	20	coherentes	19	rosado
Tm-24	crema	crema rosado	blanco verdoso	rosado	18	coherentes	40	rosado oscuro
Ts-03	crema	crema rosado	blanco	rosado	23	coherentes	54	crema rosado
Ts-14M	crema rosado	crema rosado	rosado	rosado	16	coherentes	36	rosado
Ts-14R	crema	crema	blanco	verde	20	coherentes	38	crema
Ts-15	blanco	blanco	verdoso	verdoso	20	coherentes	39	blanco
Ts-20	blanco	blanco	blanco verdoso	blanco verdoso	20	coherentes	42	blanco
Ts-24	crema	crema	morado	verde	13	intermedia	10	blanco
Ts-27	crema	crema	violeta	verde	27	intermedia	14	blanco

Cuadro 2.6. *Continuación.*

Código	No. anteras/ estaminodio	Color interno inflorescencia	Morfología		No. filas flores estériles	Color flores estériles
			estaminodios estériles	Partes estéril acinturada		
Ta-01	6	blanco	mono	poco	9	blanco
Ta-03	5	blanco	mono separados	poco	10	crema
Ta-04	5	blanco	mono separados	poco	7	crema
Tb-09	6	rosado	poco dimórfico	poco	10	rosado oscuro
Tb-11	6	blanco	dimórfico	mucho	12	blanco
Tb-17	6	blanco	mono	poco	8	crema
Tb-22	6	blanco	dimórfico	mucho	21	crema
Tb-23	6	blanco	dimórfico	mucho	13	crema
Tm-01	6	rosado	poco dimórfico	no	11	rosado oscuro
Tm-03	6	rosado	poco dimórfico	poco	11	rosado oscuro
Tm-04	6	rosado	poco dimórfico	poco	10	rosado oscuro
Tm-09	6	rosado	poco dimórfico	poco	11	rosado oscuro
Tm-17	6	rosado	poco dimórfico	poco	11	rosado oscuro
Tm-22	6	rosado	poco dimórfico	poco	19	rosado
Tm-24	6	rosado	poco dimórfico	mucho	12	rosado
Ts-03	6	rosado	muy dimórfico	mucho	11	rosado oscuro
Ts-14M	6	rosado	poco dimórfico	no	9	rosado
Ts-14R	6	blanco	dimórfico	mucho	11	crema
Ts-15	5	blanco	dimórfico	mucho	9	blanco
Ts-20	5	blanco	dimórfico	mucho	9	blanco
Ts-24	5	blanco	dimórfico	mucho	10	violeta
Ts-27	5	blanco	dimórfico	poco	13	blanco

Entre los grupos formados en el análisis gráfico (Figura 2.2), se nota la mezcla que incluyen a los tiquizques blancos cultivados y algunos silvestres, lo cual indica que el análisis multivariado (taxonomía numérica) no es conclusivo a causa de la similitud entre especies de varias de las características empleadas en el análisis. Estudios previos de los recursos genéticos de *Xanthosoma* cultivado no han detallado las características florales (Mbouobda *et al.* 2007, Milián *et al.* 2001, Onokpise *et al.* 1999, Tambong *et al.* 1997). El estudio de las características florales en *Xanthosoma* ha sido limitado en gran medida por la falta de floración natural en las accesiones utilizadas en estos estudios. En el análisis de la diversidad genética de *Colocasia esculenta* (L.) Schott, otra arácea comestible, tampoco se ha incluido el estudio de las características florales, debido a esta misma limitación (Lebot *et al.* 2004, Okpul *et al.* 2004, Quero-García *et al.* 2004). En el estudio de los recursos genéticos de algunos cultivos, las características florales se han analizado mediante taxonomía numérica en conjunto con los caracteres vegetativos, como parte de la variabilidad total, como se ha realizado *Arracacia* Bancroft (Blas *et al.* 2008), *Dioscorea* L. (Kumar *et al.* 2007), *Musa* L. (De Laghe *et al.* 2005), *Fragaria* L. (Hancock *et al.* 2004) y *Capsicum* L. (Baral y Bosland 2004), aunque su aporte a los resultados ha sido muy significativo, incluso determinante para la separación de accesiones y especies. A pesar de que el análisis multivariado de las características florales de *Xanthosoma* no es conclusivo, una revisión detallada de algunas características morfológicas diagnósticas es útil para realizar la determinación taxonómica de cada material, tal como se demuestra más adelante.

4.5 Determinación taxonómica de las accesiones que florecieron naturalmente

Las accesiones silvestres se determinaron taxonómicamente acorde a Grayum (2003). Este autor provee una amplia descripción para *Xanthosoma dealbatum* Grayum (Figura 2.3A), una especie que él describió por primera vez y que es endémica de Costa Rica, cuyas inflorescencias y estructuras vegetativas están completamente desprovistas de antocianinas, con hojas concoloras en ambos lados de la lámina, cormo muy pequeño y estolones, ambos de color blanco en el interior. A esta descripción pertenecen las accesiones Ts-15 y Ts-29 (según los datos de pasaporte para esta última). Para *X. mexicanum* Liemb. y *X. wendlandii* Schott (Figura 2.3B y D), dos especies enanas de amplia distribución en el neotrópico

(Grayum 2003, MBG 2011). *X. mexicanum* (Ts-24) posee abundantes antocianinas purpúreas en el lado interno de la base de la espata, pecíolos y láminas foliares sagitadas y pubescentes, mientras que *X. wendlandii* (Ts-27), no posee antocianinas en la inflorescencia, o se presentan como un ligero halo hacia la base del espádice, pigmentación de antocianinas en los pecíolos en un patrón reticulado y hojas verde oscuro y completamente digitadas. *X. undipes* K. Koch & C.D. Bouché es una especie fácil de reconocer por sus inflorescencias con abundantes antocianinas rojas en la base de la espata, un gran tallo aéreo erecto o en ocasiones reclinado, hojas enormes y es muy común en los bosques tropicales nacionales. Aunque no se obtuvo flores en cultivo de *X. undipes*, se tenía el registro fotográfico y de los datos pasaporte de las recolectas. Esta especie es de sombra, por lo que solo varias accesiones murieron (Ts-08, Ts-10 y Ts-11) por la quema de las hojas por efecto del sol y del viento, a pesar de que se cubrieron con una malla con 60% de sombra durante los primeros meses de cultivo. La única accesión de esta especie de la que se pudo tener información completa fue de la Ts-20, aunque para el resto de las accesiones se tenía el pasaporte de colecta, ya que en todas las recolectas en campo se encontró plantas en floración.

La descripción de las especies cultivadas se basó en una comparación de las flores obtenidas de las plantas que florecieron naturalmente en campo (Figura 2.4) con las láminas de Schott (Figura 2.5). La accesión Ta-01 (Figura 2.4A) se consideró como distinta a las otras denominadas Ta, ya que sus inflorescencias presentaron estaminodios estériles y fértiles muy compactos, mientras que Ta-03 y Ta-04 los presentaron con variable grado de separación (Figura 2.4D). Además, Ta-01 no presenta dimorfismo de los estaminodios estériles, ni acinturamiento de la sección estéril, sino que son homogéneos en tamaño y forma (Figura 2.4 C). Además, la planta tiene un color amarillento en todas las hojas y pecíolos, es acaulescente (sin tallo sobre el suelo), las venas adaxiales concoloras (mismo color) con la lámina foliar (Figura 2.6A), los cormelos abundantes, pequeños y de color crema en su interior, no blanco (Cuadro 2.8), lo cual la diferencia de las accesiones consideradas como Tb. Tampoco coincide con las láminas de Schott de *X. sagittifolium* o *X. robustum* (Figura 2.5A y C). Estas características vegetativas coinciden mejor con las descripciones dadas para *X. caracu* K. Koch & D. Bouch, que es un tipo cultivado en

Florida, Puerto Rico y Cuba (Morton 1972). Entre los cultivares conocidos para *X. caracu* se encuentra el 'Blanca Viequera' (Milián *et al.* 2001), por lo que a la accesión Tb-06 posiblemente pertenezca a esta especie, aunque esta variedad tiene menos hojas y cormelos más grandes (datos no mostrados, las plantas fueron afectadas por mal seco). Esta es la identificación taxonómica más aproximada, pero no se contó con una descripción completa o un ícono para confirmar.

Cuadro 2.7. Autovalores de los primeros cuatro componentes principales del análisis de los caracteres reproductivos de las accesiones que florecieron naturalmente.

Variable	Autovectores por CP ¹			
	CP1	CP 2	CP 3	CP 4
LoSeFe	+ 0,19	- -0,30	0,05	0,00
LoSeEs	+ 0,33	0,11	-0,07	-0,02
LoSeMa	+ 0,33	-0,17	-0,07	0,08
LoPed	+ 0,23	0,08	+ 0,49	-0,04
LoBaEsp	+ 0,28	0,04	0,13	0,05
LoLaEsp	+ 0,30	-0,14	-0,07	0,10
CoIBaEsp	0,03	+ 0,43	- -0,32	+ 0,58
CoEBaEsp	+ 0,29	0,11	-0,13	-0,16
CoECoEsp	+ 0,36	0,13	-0,12	0,07
NFFloFe	0,05	- -0,32	+ 0,49	+ 0,58
NFFloMa	+ 0,19	- -0,51	-0,05	-0,12
CoFloMa	+ 0,32	0,14	-0,13	-0,11
NAntFMa	+ 0,22	0,23	0,25	- -0,45
NFFloEs	0,02	+ 0,43	+ 0,51	0,06
CoFloEs	+0,35	0,03	-0,10	0,20
Estadísticos				
λ_k^2	6,75	2,24	1,32	1,06
Diferencia ³	4,50	0,92	0,26	0,21
Proporción ⁴	0,45	0,15	0,09	0,07
Acumulado	0,45	0,60	0,69	0,76

Nota: ¹. Significancia estadística del autovalor determinada acorde a la regla de Jolliffe (2002), significativos +/- . ². Autovalor del componente principal.

³. Diferencia al siguiente componente. ⁴. Proporción de la variabilidad explicada por el componente.

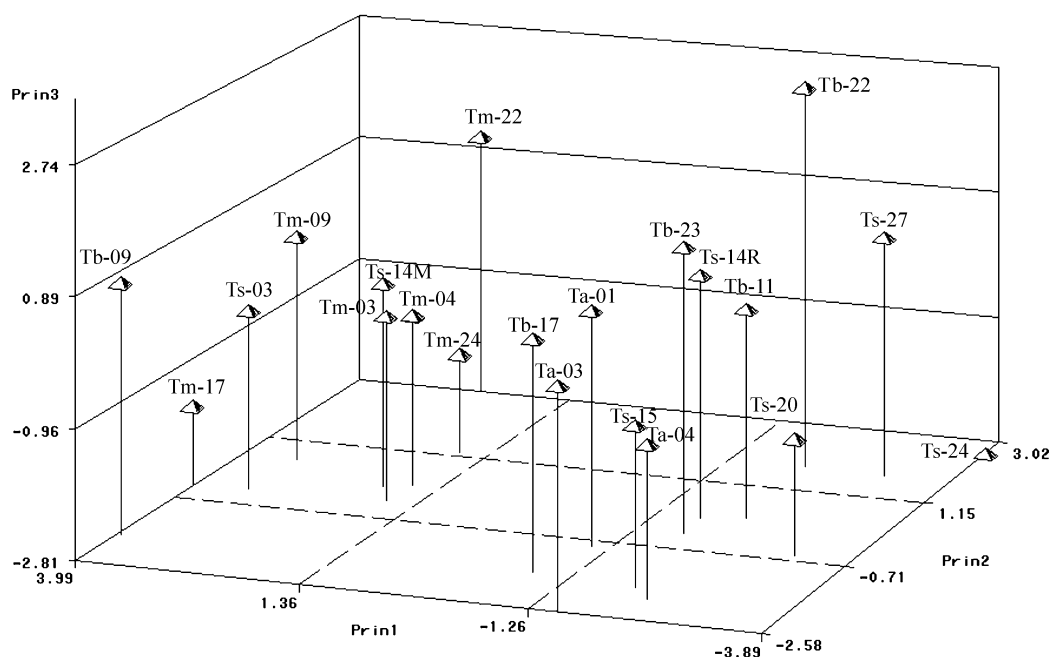


Figura 2.2. Distancias de Mahalanobis de las accesiones cultivadas y silvestres de *Xanthosoma* para los tres primeros componentes principales del análisis de los descriptores de las inflorescencias observados en campo.

Las accesiones Ta-03 (Figura 2.4D) y Ta-04 se identificaron como verdaderas representativas de *Xanthosoma sagittifolium* Schott, debido a su coincidencia en las características florales diagnósticas observables en el lectotipo (material tipo, desecata de herbario o dibujo, que reemplaza al holotipo faltante o perdido) (Figura 2.5A): estaminodios estériles separados y cinco estambres por estaminodio fértil. Esto es de resaltar, ya que se hizo un conteo del número de estambres por estaminodio en las inflorescencias de las accesiones que se encontraron en floración durante la recolecta o de las que florecieron naturalmente, el cual resultó que las accesiones blancas y moradas cultivadas, así como en las silvestres, el número de estambres fue de seis. Por otra parte, las características vegetativas también fueron semejantes entre Ta-03, Ta-04 y Mut 5-5, con tallo con crecimiento sobre el suelo, pecíolo delgados y largos con vainas cerca de la mitad del largo, hojas sagitadas muy oscuras con venas en el lado adaxial discoloras, color interno del cormo central amarillo y cormelos muy pequeños, por lo que Mut5-5 también se adscribe a esta especie (Cuadros 2.9 y 2.10).



Figura 2.3. Inflorescencias de las especies silvestres de *Xanthosoma*: A) *Xanthosoma dealbatum* Ts-15; B) *X. mexicanum* Ts-24; plantas silvestres: C) *X. undipes*; D) *X. wendlandii*.



Figura 2.4. Inflorescencias de las especies cultivadas de *Xanthosoma*: A) *Xanthosoma caracu* Ta-01; B) *X. mafaffa* Tm-17; C) *X. robustum* Tb-23; D) *X. sagittifolium* Ta-03.

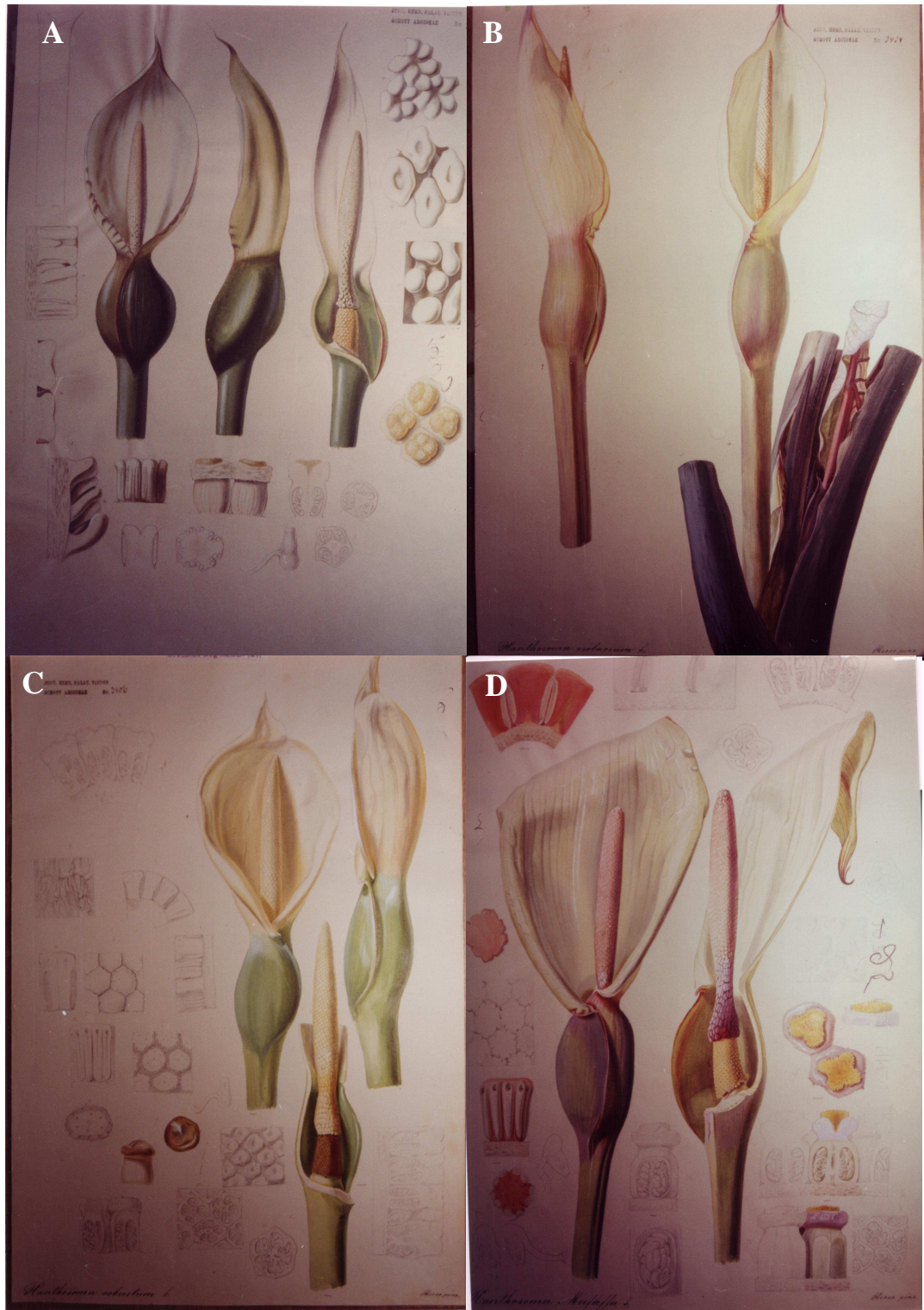


Figura 2.5. Íconos de las plantas descritas por Schott como plantas tipo: A) *Xanthosoma sagittifolium*; B) *X. violaceum*; C) *X. robustum*; D) *X. mafaffa*. Imágenes provistas amablemente por el Dr. E. Gonçalves Gomes.

Cuadro 2.8. Promedio y desviación estándar por especie de las características florales cuantitativas de las accesiones sembradas en campo.

Especie	N	Longitud sección femenina (cm)	Longitud sección estéril (cm)	Longitud sección masculina (cm)	Longitud pedúnculo (cm)	Longitud base espata (cm)	Longitud lámina espata (cm)
<i>X. caracu</i>	1	4,0 (-)	4,5 (-)	14,5 (-)	40,0 (-)	10,5 (-)	18,0 (-)
<i>X. sagittifolium</i>	2	3,8 (0,4)	4,5 (0,7)	11,0 (-)	37,5 (3,5)	9,8 (0,4)	18,5 (2,8)
<i>X. robustum</i>	5	3,2 (0,8)	4,2 (0,4)	9,7 (1,2)	48,0 (7,6)	8,8 (0,6)	17,2 (2,0)
<i>X. mafaffa</i>	10	4,0 (0,4)	6,4 (0,7)	15,2 (3,0)	52,0 (7,9)	11,8 (2,9)	22,9 (4,5)
<i>X. dealbatum</i>	2	4,0 (2,1)	3,5 (0,7)	10,5 (1,4)	30,0 (7,1)	7,5 (0,7)	15,3 (3,2)
<i>X. mexicanum</i>	1	2,5 (-)	4,8 (-)	7,0 (-)	20,0 (-)	7,0 (-)	12,0 (-)
<i>X. wendlandii</i>	1	2,5 (-)	2,5 (-)	11,0 (-)	54,0 (-)	6,5 (-)	13,0 (-)

Notas: N: número de accesiones. Desviación estándar entre paréntesis.

Las características diagnósticas de *X. sagittifolium* la separan como una especie y no como un “complejo de especies”. Originalmente, Schott describió esta especie a partir de plantas en cultivo y no se conoce su procedencia ni su comportamiento en condiciones naturales. No obstante, Nicolson (1975) estableció como especie tipo del género (lectotipo) a *X. sagittifolium*, por lo que sus características generales determinan lo que se ha de considerar como perteneciente a este género. A pesar de esta designación, no se han realizados trabajos específicos para establecer que es en realidad *X. sagittifolium*, hasta este estudio y las colaboraciones con E. Gonçalves. Por esta razón, la mayoría de la literatura indica como *X. sagittifolium* a varias formas cultivadas, pero principalmente a aquellas de corno blanco, lo cual es incorrecto a la luz de lo obtenido en este estudio.

El principal conflicto taxonómico se encontró con las accesiones identificadas como Tb y Tm, así como con accesiones silvestres relacionadas. Como se indicó anteriormente, las variedades de tiquizque morado (Tm) junto con tres accesiones más (Ts-03, Ts-14M y Tb-09) se separaron de las de Tb en el análisis multivariado. La comparación de las características de coloración y forma de las accesiones identificadas como Tm (tiquizque morado) (Figura 2.4B) no coinciden *X. sagittifolium* o *X. violaceum*, de acuerdo con lo mostrado en la láminas de Schott (Figura 5A y B, respectivamente), especies que se le han atribuido como identidad taxonómica (O'Hair y Asokan 1986, León 1968), ya que *X. sagittifolium*, como se ha descrito anteriormente, tiene características muy particulares,

mientras que *X. violaceum* presenta las antocianinas en tonalidades purpúreas oscuras en toda la base interna de la espata, estaminodios estériles, peciolos y venación de las hojas, así como el dimorfismo de los estaminodios estériles.

Todas las accesiones Tm que floraron, así como Tb-09, Ts-03 y Ts-14M, coinciden con la lectotipo de *X. mafaffa* (Figura 2.5D), pues poseen antocianinas en tonos rosados a fucsia oscuro en la lámina de la espata, en las secciones estéril y masculina del espádice, además de un dimorfismo poco acentuado de los estaminodios estériles y acinturado poco evidente (Cuadro 2.6). Otra característica descriptiva compartida por estas plantas con *X. mafaffa* silvestre es la coloración ferruginosa de la sección femenina del espádice cuando termina su periodo de fertilidad, distinto al color café observado en las demás especies (E. Gonçalves com. pers.). Okeke (1992) es de la misma opinión sobre que los cultivares de coloraciones moradas pertenecen a *X. mafaffa*, aunque basa su determinación taxonómica en pocas y ambiguas características. Una descripción más detallada es dada por Gonçalves (2011), la cual confirma la presente determinación taxonómica. La accesión Tb-09 se encontró evidentemente mal clasificada como tiquizque blanco. Las accesiones silvestres Ts-13, Ts-21 y Ts-23 también se determinaron como *X. mafaffa* a partir de los datos de pasaporte de colecta.

Las flores de *X. mafaffa* son generalmente más grandes que las de otras especies (Cuadro 2.8). No obstante, la variabilidad intraespecífica en *X. mafaffa* es mayor, por lo que se podría encontrar algunas variantes con inflorescencias de tamaños pequeños semejantes a las de otras especies, pero cuyas características cualitativas son inconfundibles, como el poco dimorfismo de los estaminodios estériles, las coloraciones de la espata, de la sección femenina color ferruginoso al perder su viabilidad y de las secciones masculina y estéril rosadas. Estos patrones de color son reconocidos como importantes caracteres taxonómicos dentro del género *Xanthosoma* (Croat 1985).

Las accesiones determinadas como tiquizque blanco (Tb) que florecieron (Cuadro 2.6) presentaron inflorescencias con características observables en el lectotipo de *X. robustum* (Figura 2.5C), tales como: pocas o nulas antocianinas, coloración muy blanca de las

secciones estéril y masculina del espádice, estaminodios estériles dimórficos con los basales extendiéndose hacia abajo sobre las flores femeninas, sección estéril acinturada (Figura 2.4C). Estas mismas características son indicadas en su conjunto como las que permiten la diferenciación entre *X. mafaffa* y *X. robustum* las plantas de tamaño medio (Gonçalves 2011). A esta misma descripción se adscribe la accesión Ts-14R, que probablemente llegó escapada de un cultivo a la orilla de la carretera donde se le recolectó mezclado con una forma del tiquizque morado.

4.6 Descripción de los caracteres morfológicos vegetativos y otras identificaciones taxonómicas

Se estudiaron los caracteres morfológicos vegetativos cualitativos y cuantitativos del vástago (Figura 2.6) y de las estructuras subterráneas (Figura 2.7). El género *Xanthosoma* se propaga vegetativamente, por lo que la variabilidad de las características morfológicas cualitativas es mínima entre individuos de un mismo clon (Cuadro 2.9).

La comparación entre las accesiones de los descriptores vegetativos cualitativos, arrojó como resultado que los Tb (excepto Tb-09, Tb-13 y Tb21b) y el Mut 2-2 comparten características como: la ausencia o poca cantidad de antocianinas en los pecíolos y hojas, hojas sagitadas a sagito-cordadas, color blanco interno y externo del cormo central y los cormelos, cormelos de forma cilíndrica, globosa, ovalada a elíptica, por lo general fuertemente unidos al cormo central (sésiles) (Cuadro 2.9). Las accesiones que comparten estas características incluyen a las identificadas como *X. robustum* a partir del análisis morfológico de las inflorescencias, por lo que se supone que las no floreadas con las características antes listadas, pertenecen igualmente a esta especie.

Las accesiones Tm que no florecieron coinciden con las características vegetativas de las identificadas como *X. mafaffa* Schott a partir de sus características florales. Estas son reconocidas por poseer abundantes antocianinas en los pecíolos y hojas, hojas sagitadas a sagito-cordadas, color interno y externo del cormo central y de los cormelos rosado a púrpura, cormelos ovalados a elípticos poco unidos al cormo central (Cuadro 2.9). El

crecimiento del tallo erecto sobre el suelo se observó en casi todas las accesiones moradas, el cual se fue reclinando conforme la planta crecía (descriptor tallo reclinado o erecto), lo cual se observó durante las recolectas en las plantas de campo de *X. mafaffa*, tanto silvestres como cultivadas por más de un año. Con estas características se identificaron dos accesiones antes incluidas en Tb (Tb-02, Tb-03) como *X. mafaffa*, junto con Tb-09, claramente determinada anteriormente por las características diagnósticas de la flor.

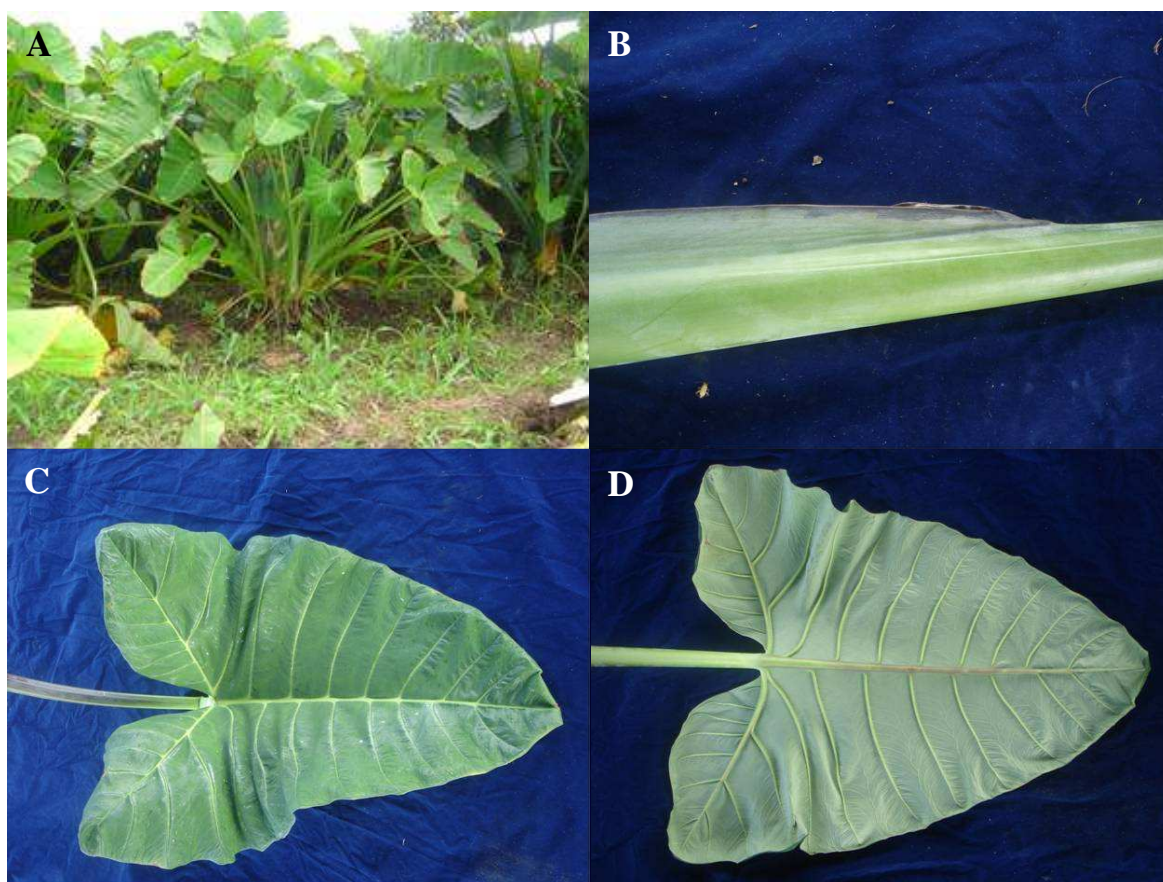


Figura 2.6. Vástago y secciones descritas de algunas de las accesiones: A) Planta de *Xanthosoma caracu* Ta-01; B) Pecíolo de *X. robustum* Tb-26; C) y D) lámina foliar abaxial y adaxial de *X. mafaffa* Tb-02.

La accesión Tb-13 tiene las características vegetativas de *X. dealbatum*, incluyendo los estolones. Se halló que la accesión Tb-21 estaba conformada por la mezcla de dos tipos distintos, las cuales fueron separadas entre plantas típicas de *X. robustum* (Tb-21a) y otras

que presentaban color amarillo en los cormelos (Tb-21b), láminas foliares más pequeñas, abundancia de cera superficial y antocianinas muy oscuras en pecíolos y el lado abaxial de las venas de las hojas, que le dan una apariencia negrusca a la planta. Las plantas Tb-21b son semejantes a la presentada en láminas de Schott para *X. atrovirens*, conocida ampliamente como una variedad proveniente de la cuenca del Río Orinoco en Venezuela y de Brasil (O'Hair y Asokan 1986, Ferreira-Jorge *et al.* 1986). Esto se pudo deber a una mezcla realizada accidentalmente en el banco de accesiones cultivadas en Islas Mauricio. Otra accesión que debió subdividirse luego de la revisión de las plantas fue la Ts-14, entre plantas de *X. mafaffa* (Ts-14M) y de *X. robustum* (Ts-14R).

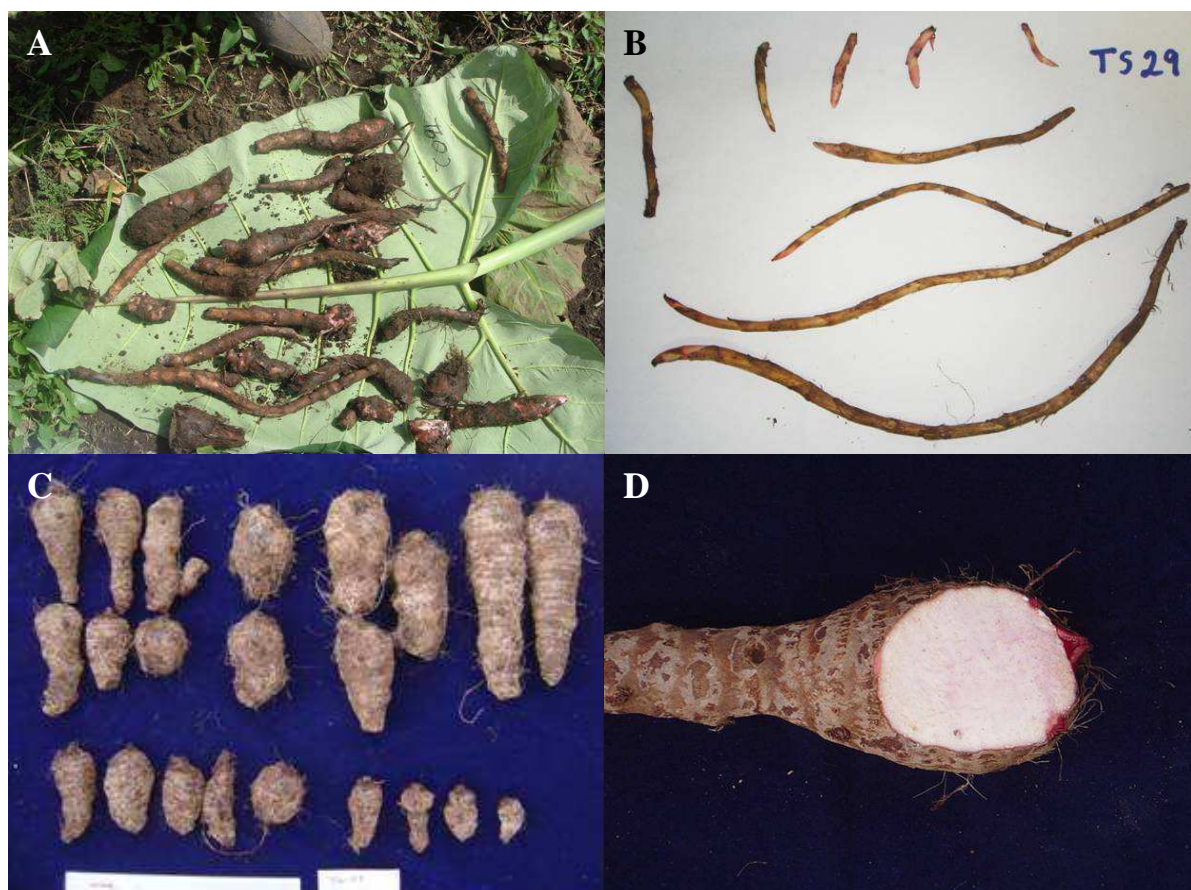


Figura 2.7. Órganos laterales subterráneos encontrados en algunas accesiones: A) Rizomas y cormelos poco definidos *X. mafaffa* Tb-002; B) Estolones de *X. dealbatum* Ts-24; C) Cormelos clasificados por tamaño y D) Corte de un cormelo que muestra el color interno y de la corteza de *X. mafaffa* Tm-07.

La correcta determinación taxonómica de las accesiones y la segregación de aquellas que tienen mezclas permiten el ordenamiento del Banco de Germoplasma de Tiquizque, así como evitar confusiones en su uso, ya sea para la micropropagación con el objetivo de obtener plantas para la producción comercial, así como para el uso de los recursos genéticos de este banco en el mejoramiento del cultivo. La separación y eliminación de duplicados es uno de los resultados importantes de los estudios de bancos de germoplasma (EASAC 2011, Pereira-Lorenzo *et al.* 2003, Van Hintum y Knüpffer 1995).

El color interno del corno central, color interno y externo de los cormelos, del borde de la hoja y la firmeza de la unión de los cormelos a la planta (casi separados o muy unidos, casi sésiles) se observaron muy homogéneos entre accesiones de una misma especie una vez realizadas las correcciones. En menor grado de homogeneidad entre accesiones de la misma especie se encontraron los descriptores ángulo de las venas primarias y la forma de los cormelos. En este último descriptor se destaca la presencia de estolones en la accesión silvestre de *X. mafaffa* Ts-03 y de estructuras rizomatosas en la cultivada Tb-02. Algunos descriptores foliares mostraron mayor variabilidad intraespecífica, como la forma de los lóbulos, la forma del corte del pecíolo, el color del pecíolo, el color de la vaina del pecíolo, el color de la lámina superior, la orientación de las hojas y el ángulo de la vena basal con respecto a la central (Cuadro 2.9).

Los descriptores cuantitativos del vástago (Cuadro 2.10) y de los órganos subterráneos (Cuadro 2.11) se estudiaron en todas las plantas sobrevivientes. Los genotipos no listados no se pudieron evaluar debido al ataque de mal seco en varios puntos de la plantación. Esta enfermedad se logró contener mejorando el drenaje del terreno, a través de la adición de carbonato de calcio y con la aplicación de Ridomil® al suelo en la base de las plantas enfermas y aledañas, acorde a las prácticas agrícolas comunes utilizadas por los productores nacionales.

Cuadro 2.9. Descriptores vegetativos cualitativos observados en plantas sembradas en campo.

Código	Forma estructura subterránea lateral	Crecimiento sobre el suelo	Color del cormo central	Forma de los lóbulos	Orientación de la hoja
Ta-01	cormelos	acaulescente	crema	astada	arriba 3D
Ta-03	cormelos	erecto	amarillento	sagitada	arriba 3D
Ta-04	cormelos	erecto	amarillento	sagitada	arriba 3D
Tb-01	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	arriba 3D
Tb-02	rizomatoso	reclinado	rosado	sagitada	mixta 3D
Tb-03	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	mixta 3D
Tb-04	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-06	cormelos	acaulescente	blanco	sagitada	abajo plana
Tb-07	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-08	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-09	cormelos	reclinado	rosado claro	sagitada	arriba 3D
Tb-10	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	3D mixta
Tb-11	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-12	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-13	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-14	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo plana
Tb-15	estolones	acaulescente	blanco	sagitada	arriba mixta
Tb-17	cormelos	erecto	blanco	sagitada	arriba 3D
Tb-19	cormelos	erecto	blanco	sagitada	arriba 3D
Tb-21a	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	3D mixta
Tb-21b	cormelos	erecto	amarillo	sagitada	arriba
Tb-22	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	mixta
Tb-23	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	abajo
Tb-26	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	plana mixta
Tm-01	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	mixta 3D
Tm-03	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	arriba 3D
Tm-04	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-09	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-12	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-13	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-17	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D
Tm-18	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-19	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-21	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-22	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	3D arriba
Tm-23	cormelos	reclinado	rosado	sagitada cordado	mixta
Tm-24	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	mixta
Ts-03	estolones	reclinado	blanco vetas rosadas	sagitada cordada	mixtas
Ts-10	no	erecto	amarillento	cordada	plana abajo
Ts-12	no	erecto	amarillento	cordada	plana abajo
Ts-14M	cormelos	reclinado	rosado	sagitada	arriba 3D
Ts-14R	cormelos	erecto	blanco	sagitado cordado	planas mixtas
Ts-15	estolones	acaulescente	amarillento	sagitada	arriba 3D
Ts-18	no	erecto	amarillo	cordada	plana abajo
Ts-20	estolones	acaulescente	amarillento	sagitada	arriba 3D
Ts-24	cormo	acaulescente	anaranjado	sagitada cordada	arriba 3D
Ts-27	cormo	acaulescente	anaranjado	lobada	arriba plana
Ts-29	estolones	acaulescente	amarillento	sagitada	arriba 3D
Mut 2-2	cormelos	erecto	blanco	sagitada cordada	mixto plana
Mut 5-5	cormelos	erecto	amarillo	sagitada	arriba 3D

Cuadro 2.9. *Continúa.*

Código	Forma vena colectora	Forma del corte pecíolo hacia	Color del pecíolo	Color de la vaina del pecíolo	Color de la lámina superior
Ta-01	regular	adentro	amarillo verdoso	verde claro	verde amarillento
Ta-03	regular	adentro	verde oscuro	verde borde oscuro	verde amarillento
Ta-04	regular	adentro	verde oscuro	verde borde oscuro	verde amarillento
Tb-01	regular	afuera	verde	verde borde morado	verde
Tb-02	regular	afuera	morado	morado	verde oscuro
Tb-03	regular	adentro	verde	morado	verde
Tb-04	regular	recta	verde	verde borde morado	verde
Tb-06	regular	adentro	verde	verde	verde
Tb-07	regular	recta	verde	verde borde morado	verde
Tb-08	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-09	regular	adentro	morado	morado	verde oscuro
Tb-10	regular	afuera	verde	morado rayado delgado	verde oscuro
Tb-11	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-12	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-13	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-14	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-15	regular	adentro	verde	verde borde morado	verde
Tb-17	regular	afuera	verde	verde borde morado	verde
Tb-19	regular	afuera	verde	verde borde morado	verde
Tb-21a	regular	recta	verde	morado rayado delgado	verde muy oscuro
Tb-21b	regular	adentro	morado oscuro a verde	morado oscuro	verde oscuro
Tb-22	regular	afuera	verde	verde	verde
Tb-23	regular	afuera	verde	verde borde rosada	verde
Tb-26	regular	afuera	verde	verde rayas delgadas	verde oscuro
Tm-01	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-03	regular	adentro	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-04	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-09	regular	adentro	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-12	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-13	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-17	regular	afuera	verde extremos morados	morado oscuro	verde oscuro
Tm-18	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-19	regular	afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-21	regular	Afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-22	regular	Afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-23	regular	Afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Tm-24	regular	Afuera	verde extremos morados	morado	verde oscuro
Ts-03	regular	Afuera	verde	verde borde rosado	verde oscuro
Ts-10	regular	Recto	verde claro	verde	verde
Ts-12	regular	Afuera	verde claro	verde	verde
Ts-14M	regular	afuera	verde extremos morados	morado oscuro	verde oscuro
Ts-14R	regular	recto	verde vena verde claro	verde borde morado	verde
Ts-15	regular	recto	verde	verde	verde
Ts-18	regular	recto	verde claro	verde	verde
Ts-20	regular	recto	verde	verde	verde
Ts-24	irregular	adentro	verde claro	verde claro	verde
Ts-27	irregular	adentro	verde mosaico morado	mosaico morado	verde oscuro
Ts-29	regular	recto	verde	verde	verde
Mut 2-2	regular	afuera	verde	verde borde morado	verde
Mut 5-5	regular	adentro	verde oscuro	verde oscuro	verde

Cuadro 2.9. Continúa.

Código	Color margen de la hoja	Ángulo de vena basal	Ángulo de venas primarias	Forma de los cormelos	Unión de cormelos a la planta	Color externo de los cormelos	Color interno de los cormelos
Ta-01	verde claro	120°	-90°	elípticos-ovalados	separados	crema	blanco
Ta-03	verde	+130°	-90°	ovalados	sésiles	amarillo	blanco
Ta-04	verde	+130°	-90°	ovalados	sésiles	amarillo	blanco
Tb-01	verde	110°	-90°	globosos	sésiles	blanco	blanco
Tb-02	morado	+120°	90°	rizoma	separados	rosado	rosado
Tb-03	morado	-120°	-90°	elípticos	separados	rosado	rosado
Tb-04	verde	+120°	-90°	elípticos	sésiles	blanco	blanco
Tb-06	verde	+120°	-90°	elípticos-ovalados	separados	blanco	blanco
Tb-07	verde	+120°	-90°	cilíndricos	sésiles	blanco	blanco
Tb-08	verde	+120°	-90°	cilíndricos	sésiles	blanco	blanco
Tb-09	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	rosado claro
Tb-10	verde	+120°	+90°	ovalados	sésiles	blanco	blanco
Tb-11	verde	+120°	-90°	globosos	sésiles	blanco	blanco
Tb-12	verde	+120°	-90°	elípticos	separados	blanco	blanco-rosado
Tb-13	verde	+120°	-90°	elípticos	separados	blanco	blanco-rosado
Tb-14	verde	+120°	-90°	elípticos	separados	blanco	blanco-rosado
Tb-15	verde	+120°	-90°	estolones	-	blanco	blanco
Tb-17	verde	+120°	-90°	elíptica	sésiles	blanco	blanco
Tb-19	verde	120°	-90°	ovoides-elípticos	sésiles	blanco	blanco
Tb-21a	verde	+120°	+90°	ovalados	sésiles	blanco	blanco
Tb-21b	verde	-120°	90°	elíptico	sésiles	amarillo	amarillo
Tb-22	verde oscuro	+120°	-90°	elípticos	sésiles	blanco	blanco-rosado
Tb-23	verde	+120°	-90°	ovalados	sésiles	blanco	blanco
Tb-26	verde	+120°	90°	ovalados	sésiles	blanco	blanco
Tm-01	morado	+120°	-90°	ovalados	separados	rosado	morado
Tm-03	morado	+120°	90°	ovalados	separados	rosado	morado
Tm-04	morado	-120°	90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-09	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-12	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-13	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-17	morado	120°	-90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-18	morado	+120°	+90°	elípticos-rizoma	separados	rosado	morado
Tm-19	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-21	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-22	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-23	morado	+120°	+90°	elípticos	separados	rosado	morado
Tm-24	morado	+120°	90°	elípticos	separados	rosado	morado
Ts-03	rosado	+120°	-90°	estolones	separados	rosado	morado
Ts-10	verde	+120°	-90°	-	-	-	-
Ts-12	morado	120°	90°	-	-	-	-
Ts-14M	morado	120°	90°	elípticos	separados	rosado	morado
Ts-14R	verde	+120°	-90°	ovados	sésiles	blanco	blanco
Ts-15	verde	+120°	-90°	estolones	-	blanco	blanco
Ts-18	verde	+120°	-90°	-	-	-	-
Ts-20	verde	+120°	-90°	estolones	-	blanco	blanco
Ts-24	verde	+120°	-90°	-	-	-	-
Ts-27	verde	90°	-90°	-	-	-	-
Ts-29	verde	+120°	-90°	estolones	-	blanco	blanco
Mut 2-2	verde	120°	-90°	ovalados	sésiles	blanco	blanco
Mut 5-5	verde	+120°	-90°	ovalados	sésiles	amarillo	amarillo

Debido a la alta variabilidad encontrada en los caracteres cuantitativos evaluados, no es posible hacer una descripción de tendencias por especie. Las únicas especies que pueden identificarse con facilidad por los descriptores cuantitativos vegetativos son *X. mexicanum* (Ts-24) y *X. wendlandii* (Ts-27), las cuales son especies enanas, la primera con hojas pilosas y la segunda con la lámina foliar digitada. En estudios previos en Camerún se ha encontrado correlaciones entre las variables descriptivas cuantitativas de los órganos subterráneos y de la parte aérea (Mbouobda *et al.* 2007, Tambong *et al.* 1997). No obstante, la diversidad genética disponible en Camerún es reducida, en comparación con la utilizada en el presente estudio (Dr. James T. Tambong, com. pers.). Entre las formas cultivadas en este trabajo se observa un alto grado de variación de los descriptores cuantitativos, la cual podría caracterizarse agrónomicamente para determinar la correlación entre las variables de cosecha, como cantidad de cormelos, cantidad de cormelos por categoría de peso y peso total de los cormelos.

Dos accesiones de tiquizque blanco (Tb-10 y Tb-26) presentaron una raya de antocianinas de borde definido en la vaina del pecíolo, que las distinguió de otras accesiones, pero con distinto grosor, mucho más gruesas en Tb-26 que en el Tb-10. Es importante destacar este tipo de variantes, ya que permite la identificación de accesiones, puede utilizarse como marcador fenológico e incluso puede utilizarse en la denominación de variedades comerciales (Brown y Caligari 2009). En el caso de Tb-26, este fue la mejor accesión en cuanto a la producción de cormelos de gran tamaño, seguido de Tb-10 (Cuadro 2.10), por lo que es muy importante darle seguimiento a este carácter, con el fin de determinar su estabilidad y presencia en otros cultivares no recolectados en este estudio, ya que podría utilizarse como un marcador en futuros trabajos de fitomejoramiento.

4.7 Análisis multivariado de los caracteres vegetativos

Con base en la información generada acerca de las accesiones y los caracteres, se determinó cuales descriptores cualitativos presentaron comportamiento colineal, tal como la presencia de antocianinas en distintos órganos, y se seleccionaron solo los más representativos para el análisis multivariado. Algunos de los descriptores se excluyeron del

análisis multivariado porque son difíciles de transformar en variables cuantitativas, como la forma de las estructuras subterráneas laterales, la forma de los lóbulos, entre otros. La guía de descriptores para *Xanthosoma* (Thompson 1989) provee, para varios de ellos, escalas ordinales con más de dos estados posibles, pero no les acompaña una justificación cladística, ni se han realizado estudios de esa naturaleza en el género *Xanthosoma* que permita asumir que las tendencias evolutivas de los caracteres expresadas en las escalas son las correctas, por lo que utilizarlas en el análisis multivariado podría sesgar los resultados. La transformación de algunos descriptores cuantitativos permitió evitar la colinealidad, como el caso de la acumulación de masa en el vástago principal, en el corno central y en los cormelos, además de reflejar la relación de sumideros.

El análisis de CP de los descriptores del cuerpo vegetativo de las plantas de *Xanthosoma* produjo seis componentes principales significativos ($\lambda_k > 1$), que representan el 81,49 % de la variabilidad total, con los primeros tres CPs altamente significativos ($\lambda_k > 2$), que contienen el 62,3 % de la variabilidad (Cuadro 2.12). Esto indica que la reducción de la dimensionalidad de los datos a estos CP describe adecuadamente las tendencias de los datos.

El primer CP está relacionado positivamente con los caracteres presencia de estructuras subterráneas laterales, presencia de tallo sobre el suelo, firmeza de la unión de los cormelos, diámetro del tallo, y el número de cormelos (o estolones); así como las características foliares: longitud del pecíolo, proporción de la longitud de la vaina con respecto al pecíolo, longitud de la hoja (porción frontal), ancho de la hoja, longitud de la vena basal y el número de hojas desarrolladas por mes.

Cuadro 2.10. Descriptores vegetativos cuantitativos del vástago observados en plantas sembradas en campo.

Código	N	Longitud del Pecíolo (cm)	Longitud de la Vaina (cm)	Longitud de Lóbulos (cm)	Longitud de la Hoja (cm)	Ancho de la Hoja (cm)
Ta-01	8	136,9 (7,7)	85,5 (13,2)	22,3 (4,0)	53,3 (6,3)	53,6 (8,2)
Ta-03	6	184,0 (8,8)	101,2 (10,3)	41,3 (4,8)	78,7 (4,2)	77,0 (1,8)
Ta-04	10	168,3 (7,5)	87,6 (10,3)	32,1 (3,5)	65,2 (3,3)	65,3 (3,8)
Tb-01	6	153,3 (14,2)	105,2 (10,8)	27,5 (1,2)	66,5 (4,6)	71,2 (7,7)
Tb-02	5	167,2 (15,0)	123,0 (13,8)	24,8 (1,8)	24,8 (1,8)	67,2 (5,9)
Tb-08	6	108,8 (5,4)	70,7 (6,6)	13,8 (2,3)	41,8 (5,8)	38,7 (5,4)
Tb-09	7	172,3 (10,9)	115,4 (9,0)	20,3 (2,2)	66,0 (5,0)	67,0 (7,6)
Tb-10	18	173,2 (13,0)	116,3 (7,5)	16,8 (2,2)	58,0 (3,9)	54,7 (5,4)
Tb-11	12	157,3 (11,3)	90,7 (7,2)	21,4 (2,9)	61,5 (4,9)	64,0 (5,2)
Tb-12	11	157,1 (12,0)	90,5 (9,5)	20,9 (3,8)	58,1 (4,4)	59,0 (5,8)
Tb-17	14	145,6 (8,7)	96,6 (4,8)	19,1 (1,9)	59,6 (5,3)	62,8 (8,3)
Tb-19	10	144,0 (15,4)	97,8 (9,4)	19,7 (3,1)	60,3 (4,5)	64,2 (9,1)
Tb-21a	5	146,6 (4,2)	101,2 (3,8)	20,8 (1,9)	60,0 (7,4)	66,2 (6,5)
Tb-21b	5	141,6 (4,7)	90,8 (6,6)	17,8 (4,5)	53,6 (4,4)	56,4 (3,6)
Tb-22	18	152,7 (6,0)	108,4 (5,2)	19,5 (2,4)	60,3 (5,7)	62,2 (7,2)
Tb-23	19	159,7 (9,5)	87,3 (7,6)	22,5 (3,8)	62,9 (4,3)	60,9 (5,7)
Tb-26	10	132,2 (15,1)	85,0 (10,9)	20,7 (4,7)	51,2 (8,4)	51,3 (8,5)
Tm-01	18	154,6 (5,4)	101,6 (5,3)	19,2 (1,6)	60,4 (3,2)	59,9 (8,5)
Tm-03	13	146,8 (14,3)	91,7 (10,1)	18,1 (3,0)	55,0 (11,0)	52,2 (8,5)
Tm-04	16	134,2 (9,0)	86,0 (8,5)	15,5 (2,9)	48,4 (5,6)	45,6 (7,8)
Tm-09	8	147,0 (5,5)	97,4 (4,4)	15,6 (2,5)	51,1 (3,9)	47,8 (4,6)
Tm-12	2	117,5 (2,1)	85,0 (15,6)	15,5 (2,1)	46,5 (4,9)	32,0 (31,1)
Tm-13	3	160,7 (6,1)	110,0 (5,0)	19,3 (5,0)	64,0 (8,0)	59,3 (9,9)
Tm-17	6	170,8 (9,1)	112,3 (17,4)	20,8 (2,1)	69,2 (5,9)	69,3 (6,9)
Tm-18	3	139,0 (2,6)	90,7 (8,5)	27,7 (2,5)	49,3 (10,6)	48,0 (8,7)
Tm-19	1	165	94	25	57	58
Tm-21	9	151,8 (7,7)	99,8 (7,4)	26,3 (3,0)	56,4 (5,6)	52,9 (7,0)
Tm-22	3	137,7 (1,5)	90,3 (4,2)	26,3 (2,5)	62,7 (0,6)	63,3 (3,8)
Tm-23	4	121,3 (6,8)	83,3 (8,5)	22,5 (2,4)	50,8 (2,6)	53,5 (3,1)
Tm-24	5	142,8 (5,6)	98,4 (3,9)	24,0 (2,9)	60,4 (6,2)	59,8 (5,4)
Ts-03	17	172,5 (13,1)	111,8 (9,8)	37,2 (4,3)	73,5 (7,3)	86,1 (8,4)
Ts-10	10	67,3 (13,3)	50,0 (10,5)	21,3 (5,9)	37,1 (8,4)	49,2 (10,1)
Ts-12	12	66,7 (17,5)	44,2 (11,8)	16,8 (4,9)	35,8 (9,8)	40,2 (12,2)
Ts-14M	5	132,2 (10,9)	85,8 (7,7)	22,0 (3,1)	49,8 (6,4)	48,4 (6,8)
Ts-14R	4	141,0 (12,8)	79,8 (9,4)	27,5 (3,5)	41,3 (4,8)	37,5 (3,7)
Ts-15	13	121,2 (8,9)	55,1 (9,9)	20,2 (4,1)	43,1 (6,3)	43,4 (8,2)
Ts-18	18	71,2 (15,0)	45,9 (11,2)	21,2 (4,3)	43,8 (10,4)	53,2 (10,9)
Ts-20	14	109,8 (13,5)	45,8 (7,6)	17,3 (2,4)	36,3 (5,0)	35,4 (5,7)
Ts-24	1	60	21	6	30	44
Ts-27	1	60	16	13	20	22
Ts-29	2	75,5 (13,4)	40,5 (4,9)	14,5 (0,7)	27,0 (4,2)	27,0 (4,2)
Mut 2-2	17	131,1 (8,3)	88,1 (6,2)	24,4 (2,7)	57,7 (4,4)	60,8 (4,6)
Mut 5-5	5	179,2 (10,0)	100,4 (5,8)	33,6 (4,3)	69,4 (3,6)	67,0 (5,1)

Notas: N: número de plantas supervivientes. Desviación estándar entre paréntesis.

Cuadro 2.10. *Continúa.*

Código	Longitud Vena Basal (cm)	Ancho del Sinuo (cm)	Desnudes Vena Basal (cm)	No. Pares de Venas	No. Hojas desarrolladas por mes	No. Hijos	Longitud Tallo (cm)
Ta-01	37,4 (4,8)	4,4 (6,3)	1,2 (0,4)	6,8 (0,5)	3,0 (0,8)	8,9 (1,6)	4,6 (1,8)
Ta-03	58,8 (3,7)	0,2 (0,4)	0	11,8 (0,4)	2,0 (0,9)	1,5 (1,4)	8,2 (1,0)
Ta-04	49,4 (3,1)	0	0	11,1 (0,6)	2,0 (0,5)	2,3 (1,3)	5,0 (2,1)
Tb-01	42,0 (1,9)	2,4 (0,9)	3,3 (0,6)	8,8	4,3 (0,5)	6,8 (1,2)	12,3 (2,7)
Tb-02	39,6 (5,4)	3,4 (0,5)	1,6 (0,8)	7,8 (0,4)	4,6 (0,5)	3,6 (2,1)	4,8 (1,8)
Tb-08	24,8 (3,9)	1,3 (1,5)	2,3 (0,4)	7,5 (0,5)	2,5 (0,8)	4,7 (2,0)	11,0 (3,3)
Tb-09	41,7 (5,0)	3,9 (1,1)	3,1 (1,1)	7,7 (0,8)	3,6 (0,5)	1,3 (2,2)	5,0 (1,7)
Tb-10	37,0 (2,8)	3,3 (1,0)	2,9 (0,5)	7,0	4,5 (0,5)	4,4 (3,0)	6,1 (1,9)
Tb-11	43,3 (3,7)	3,3 (1,0)	5,4 (1,0)	8,0 (0,4)	2,7 (0,5)	6,6 (1,6)	6,9 (2,8)
Tb-12	41,6 (4,0)	1,5 (1,4)	3,9 (0,4)	7,4 (0,5)	2,5 (0,5)	7,3 (1,1)	6,3 (2,1)
Tb-17	36,8 (3,8)	2,8 (1,8)	3,4 (0,8)	7,6 (0,5)	2,9 (0,7)	3,5 (2,7)	13,7 (3,2)
Tb-19	36,3 (6,0)	0,6 (0,8)	3,0 (0,9)	7,9 (0,3)	3,9 (0,7)	6,6 (2,0)	10,5 (2,5)
Tb-21a	42,6 (3,6)	1,8 (1,3)	2,3 (0,8)	7,0 (0,0)	3,6 (0,5)	7,0 (1,9)	11,2 (2,9)
Tb-21b	37,4 (3,0)	3,9 (1,8)	1,8 (0,4)	7,4 (0,5)	-	4,4 (1,8)	5,8 (2,2)
Tb-22	37,5 (4,2)	2,0 (2,1)	2,8 (0,9)	7,8 (0,6)	4,4 (0,7)	5,0 (2,7)	10,4 (1,9)
Tb-23	42,6 (4,2)	1,4 (1,9)	3,8 (1,3)	7,4 (0,5)	2,4 (0,7)	6,9 (1,2)	3,5 (2,9)
Tb-26	33,2 (8,7)	2,6 (0,6)	2,5 (0,7)	7,1 (0,3)	3,5 (0,5)	1,5 (0,7)	0
Tm-01	39,0 (2,7)	2,3 (2,1)	2,4 (0,9)	7,5 (0,5)	3,6 (0,5)	3,8 (1,9)	3,0 (2,4)
Tm-03	35,2 (5,2)	1,5 (1,5)	2,9 (0,7)	7,2 (0,6)	2,9 (0,8)	4,2 (2,9)	4,5 (1,8)
Tm-04	30,3 (2,7)	3,4 (1,9)	2,6 (0,9)	7,6 (0,5)	2,6 (0,6)	0,6 (0,7)	4,2 (1,8)
Tm-09	33,9 (2,1)	3,9 (1,7)	2,4 (0,5)	7,8 (0,5)	3,3 (0,5)	2,4 (2,4)	6,3 (2,1)
Tm-12	30,0 (2,8)	0	2,5	7,0	4,0	0	0
Tm-13	41,3 (5,0)	4,0 (3,6)	5,8 (1,0)	8,0 (0,0)	3,0 (0,0)	0	6,0 (1,7)
Tm-17	45,7 (2,7)	4,8 (3,7)	7,4 (1,1)	7,7 (0,5)	3,2 (0,4)	0	4,3 (0,5)
Tm-18	35,0 (5,6)	2,3 (0,8)	1,8 (0,8)	7,0	3,3 (0,6)	4,0 (1,7)	3,3 (0,6)
Tm-19	39	5,0	2,0	6	3	4	5
Tm-21	40,4 (3,4)	3,1 (0,8)	2,6 (0,5)	7,4 (0,5)	2,9 (0,6)	3,4 (1,0)	4,4 (2,8)
Tm-22	38,7 (0,6)	3,0 (1,7)	2,3 (1,0)	7,3 (0,6)	2,7 (0,6)	0,3 (0,6)	3,0
Tm-23	33,5 (1,7)	3,4 (2,1)	2,3 (0,5)	7,0	3,3 (1,0)	3,3 (2,1)	4,3 (1,9)
Tm-24	42,4 (4,6)	3,7 (1,1)	5,7 (1,1)	7,0	2,8 (0,4)	6,4 (1,8)	5,4 (2,1)
Ts-03	54,9 (4,8)	3,7 (1,5)	6,1 (1,2)	7,3 (0,5)	3,0 (0,5)	1,1 (1,3)	7,1 (2,3)
Ts-10	27,1 (5,0)	0,4 (0,7)	0,9 (0,5)	7,9 (1,3)	2,2 (0,4)	0,5 (0,5)	19,1 (8,9)
Ts-12	22,0 (6,2)	0,5 (0,5)	1,0 (0,4)	8,3 (1,0)	2,2 (0,4)	4,7 (6,6)	15,6 (4,8)
Ts-14M	32,8 (3,3)	3,0 (1,0)	2,1 (0,7)	7,4 (0,5)	3,2 (0,8)	2,8 (1,6)	2,8 (1,8)
Ts-14R	30,5 (3,0)	2,5 (1,3)	2,8 (0,5)	7,3 (0,5)	2,0	6,0 (2,8)	1,5 (1,7)
Ts-15	29,5 (6,7)	1,8 (0,4)	1,2 (1,4)	7,3 (0,5)	2,5 (0,5)	4,2 (1,2)	2,3 (2,1)
Ts-18	29,7 (6,5)	0,6 (0,7)	0,8 (0,5)	8,7 (1,0)	2,1 (0,3)	3,4 (0,9)	11,8 (4,1)
Ts-20	23,6 (3,5)	1,5 (0,8)	0	6,5 (0,7)	2,1 (0,3)	3,5 (0,7)	0,9 (1,9)
Ts-24	23	0	9,0	8	1	0	0
Ts-27	17	0	0,5	5	1	0	0
Ts-29	19,0 (1,4)	1,3 (0,4)	0	6,0	2,0	1,5 (2,1)	0
Mut 2-2	36,3 (2,9)	2,0 (1,0)	2,2 (0,7)	7,9 (0,5)	3,2 (1,1)	5,1 (2,8)	6,0 (2,2)
Mut 5-5	53,8 (5,4)	0	0	9,2 (0,8)	2,4 (0,5)	0,2 (0,4)	4,6 (2,5)

El segundo CP está conformado por variabilidad de los descriptores foliares: longitud de los lóbulos, longitud de la hoja, ancho de la hoja, longitud de la vena basal, número de pares de venas, así como de presencia de posibles carotenos en los órganos subterráneos, longitud del tallo; y de manera inversa por: el crecimiento sobre el suelo, presencia de antocianinas y proporción de la masa acumulada por los cormelos con respecto al total de la planta. Algunos de los descriptores foliares de este CP son compartidos con el primer CP, por lo que se sugiere una alta variabilidad de los mismos. En este caso se observa un importante aporte de los caracteres de coloración de los cormelos y de la masa que estos acumulan.

El tercer componente está relacionado con la forma de crecimiento del tallo cuando la planta madura, la presencia de antocianinas en los órganos subterráneos, la proporción de masa aérea total acumulada vs. el total de la planta, e inversamente con el número de hijos y la longitud del tallo sobre el suelo. Los dos primeros descriptores tienen una gran importancia taxonómica como se ha indicado antes.

El cuarto CP se asocia positivamente a la longitud proporcional de la vaina con respecto al pecíolo, el ancho proporcional de la hoja con respecto a la longitud total, la desnudez de la vena basal, la longitud del tallo, la proporción de masa aérea acumulada y la masa del corno central con respecto al total de la planta, pero de manera opuesta con relación a la presencia de estructuras subterráneas laterales.

El quinto CP correlaciona positivamente con la forma de crecimiento sobre el suelo, la proporción de la longitud de la vaina con respecto al pecíolo, la longitud del tallo y la proporción de la masa del corno central con respecto al total de la planta, pero de manera negativa con la proporción del ancho de la hoja con respecto a la longitud total y la desnudez de la vena basal.

Cuadro 2.11. Descriptores vegetativos cuantitativos subterráneos y masas observados en plantas sembradas en campo.

Código	N	Diámetro del Tallo (mm)	Masa total de los cormelos (Kg)	Masa del vástago principal (Kg)	Masa de los hijos brotados (Kg)	Masa del cormo central (Kg)	No. de cormelos	Proporción cormelos de gran tamaño (>300 g)
Ta-01	5	123,0 (6,7)	5,02 (1,61)	6,20 (1,60)	12,86 (3,46)	2,44 (0,67)	42,0 (11,0)	0
Ta-03	5	137,0 (7,6)	0,60 (0,14)	10,20 (2,34)	1,88 (2,44)	3,78 (0,78)	11,6 (4,9)	0
Ta-04	5	132,0 (14,4)	0,92 (0,77)	6,08 (2,13)	7,46 (4,22)	3,00 (0,68)	13,6 (10,0)	0
Tb-01	6	160,0 (23,2)	2,22 (1,04)	9,08 (2,25)	5,77 (3,65)	5,45 (1,78)	21,3 (6,5)	0,01
Tb-02	5	169,0 (13,4)	2,48 (1,02)	10,24 (2,34)	3,94 (2,23)	5,62 (1,31)	26,0 (6,2)	0,04
Tb-08	5	81,0 (6,5)	3,10 (1,24)	1,62 (0,38)	0,86 (0,83)	2,28 (0,48)	35,8 (11,5)	0,01
Tb-09	5	155,0 (12,2)	4,84 (0,87)	7,08 (2,94)	0,94 (1,52)	4,12 (0,98)	21,0 (9,1)	0,26
Tb-10	5	146,0 (19,5)	4,20 (0,51)	7,32 (2,14)	8,12 (7,97)	3,12 (0,79)	15,0 (2,0)	0,36
Tb-11	5	130,0 (17,7)	3,72 (1,95)	5,96 (1,57)	9,02 (5,53)	2,66 (0,67)	29,8 (11,1)	0,10
Tb-12	5	128,0 (14,8)	2,70 (0,92)	4,66 (1,19)	9,10 (4,33)	2,66 (1,33)	19,4 (5,7)	0,01
Tb-17	5	149,0 (34,9)	2,82 (1,01)	8,30 (4,34)	6,46 (4,39)	5,02 (1,45)	18,6 (8,0)	0,05
Tb-19	5	139,0 (13,4)	3,62 (2,35)	7,20 (1,48)	4,48 (2,09)	2,76 (1,73)	28,8 (13,4)	0,06
Tb-21a	5	142,0 (5,7)	4,10 (0,75)	6,66 (1,04)	7,20 (4,65)	4,46 (1,22)	29,2 (6,9)	0,03
Tb-21b	5	140,0 (6,1)	3,06 (0,55)	3,30 (1,20)	3,10 (1,30)	1,50 (0,47)	35,0 (10,4)	0
Tb-22	5	145,0 (15,8)	1,92 (1,20)	10,96 (2,22)	6,86 (4,12)	2,74 (0,93)	22,0 (6,3)	0,03
Tb-23	5	125,0 (7,9)	3,82 (1,20)	5,34 (1,15)	7,94 (3,26)	2,42 (1,57)	30,4 (8,5)	0,01
Tb-26	5	120,0 (7,9)	3,16 (1,37)	4,62 (0,93)	7,98 (3,09)	1,66 (0,30)	9,8 (3,8)	0,55
Tm-01	5	129,0 (5,5)	3,74 (1,03)	6,38 (0,63)	1,70 (1,34)	2,78 (0,51)	19,2 (6,8)	0,13
Tm-03	5	136,0 (11,4)	3,12 (1,09)	8,50 (1,89)	3,40 (0,63)	3,58 (1,08)	16,0 (2,3)	0,13
Tm-04	5	141,0 (26,8)	3,72 (1,01)	5,74 (1,67)	0,22 (0,23)	2,88 (0,59)	14,0 (3,2)	0,30
Tm-09	5	149,0 (9,6)	5,28 (1,36)	6,44 (1,34)	2,60 (1,86)	3,74 (0,92)	22,8 (8,2)	0,20
Tm-12	2	87,5 (10,6)	1,80 (0,85)	2,55 (1,34)	0	0,70 (0,14)	21,5 (7,8)	0
Tm-13	3	116,7 (15,3)	4,23 (0,42)	7,07 (3,27)	0	2,13 (0,50)	31,3 (4,5)	0,03
Tm-17	5	159,0 (7,4)	5,08 (1,40)	16,32 (1,55)	0	3,42 (0,91)	32,0 (12,0)	0,09
Tm-18	3	120,0 (8,7)	3,40 (1,47)	4,97 (1,44)	4,37 (3,65)	2,43 (1,50)	23,0 (13,1)	0,03
Tm-19	2	150,0 (0)	6,40 (0,85)	8,90 (5,80)	10,25 (14,50)	3,25 (1,48)	20,0 (5,7)	0,05
Tm-21	5	123,0 (18,6)	4,88 (1,31)	6,00 (2,67)	6,54 (2,18)	3,02 (1,09)	27,4 (9,9)	0,01
Tm-22	4	141,3 (19,3)	3,08 (0,46)	5,80 (2,57)	1,30 (2,22)	2,53 (1,16)	8,5 (2,6)	0,03
Tm-23	4	121,3 (17,5)	3,13 (0,32)	3,96 (1,70)	1,73 (1,69)	1,85 (0,34)	15,3 (2,2)	0,02
Tm-24	5	139,0 (19,2)	2,78 (0,55)	7,54 (1,83)	6,36 (2,42)	3,22 (1,11)	44,8 (5,4)	0
Ts-03	5	149,0 (12,4)	1,76 (0,44)	13,26 (2,60)	1,38 (2,44)	3,50 (1,21)	0	0
Ts-12	5	93,0 (8,4)	0	1,40 (0,54)	1,96 (1,54)	1,90 (0,68)	0	0
Ts-14M	5	119,0 (12,4)	2,48 (0,95)	4,76 (1,73)	1,28 (0,68)	1,98 (0,50)	17,2 (3,7)	0,01
Ts-14R	5	101,0 (19,5)	2,26 (0,50)	2,46 (0,88)	4,72 (1,24)	2,08 (2,28)	20,3 (3,9)	0
Ts-15	4	72,5 (19,4)	1,35 (0,37)	1,43 (1,29)	8,70 (2,79)	1,00 (0,88)	0	0
Ts-18	5	100,0 (6,1)	0	1,98 (0,37)	2,36 (0,81)	2,10 (0,22)	0	0
Ts-29	2	57,5 (10,6)	0,95 (0,64)	0,40 (0,14)	2,45 (2,19)	0,40 (0,14)	0	0
Mut 2-2	5	135,0 (10,0)	1,90 (0,93)	5,10 (0,95)	1,92 (0,78)	2,42 (0,90)	24,8 (14,9)	0
Mut 5-5	5	130,0 (13,7)	0,28 (0,16)	8,14 (2,67)	0,10 (0,22)	2,96 (0,48)	6,3 (6,1)	0

Nota: desviación estándar entre paréntesis.

El sexto y último CP significativo está fuertemente correlacionado de manera positiva con la proporción de cormelos grandes e inversamente con el número de cormelos, las cuales son variables importantes para la producción comercial. Las tendencias para los tres últimos CP son difíciles de interpretar, con excepción del fuerte aporte de la proporción de cormelos grandes, que caracteriza a algunas accesiones: Tb-09, Tb-10, Tb-26, Tm-04 y Tm-09 (Cuadro 2.11). Esta última característica es importante, ya que los cormelos de gran tamaño son mucho más comerciales y de calidad para exportación, por lo que variedades comerciales de alto rendimiento podrían desarrollarse a partir de las accesiones antes mencionadas.

La relación fenotípica de las accesiones con respecto a los resultados de los primeros tres CP muestra la clara separación de algunas accesiones, así como la relación dentro de los grupos (Figura 2.8). A lo largo del primer CP se segregan las características más importantes de crecimiento, lo cual resulta en la separación de la mayoría los tipos silvestres (Ts) de los cultivados (Ta, Tb y Tm), ya que la mayoría de los Ts fueron de menor tamaño y no poseen estructuras laterales o muy pocos estolones.

En el caso de Ts-03 y Ts-14M, estos se ubicaron con los demás Tm en el primer CP. Los mutantes (Mut) se ubican relativamente cerca de los tipos blanco (el Mut 2-2) y amarillo (el Mut 5-5), donde el análisis taxonómico los ubica. En el segundo CP se separan las accesiones amarillas Ta-03, Ta-04 y Mut 5-5 y se nota una dispersión de los grupos cultivados Tb y Tm, ya que este CP incluye variabilidad de descriptores que también se encuentra en el primero. Esto hace que en los dos primeros componentes se pueda separar más claramente las variedades más contrastantes y en menor grado los grupos Tb y Tm. El tercer CP muestra el agrupamiento de las accesiones cultivadas Tb y Tm, de manera muy clara, tomando en cuenta la importancia del aporte de caracteres cualitativos de importancia taxonómica en dicho CP.

Cuadro 2.12. Autovalores de los primeros seis componentes principales del análisis para los caracteres vegetativos.

Variable	Autovectores por CP ¹					
	CP1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5	CP 6
EstrSub	+ 0,25	-0,12	0,04	-0,20	-0,11	0,15
CreSuel	+ 0,29	0,03	-0,09	0,08	+ 0,33	-0,03
CrecErec	0,13	- -0,26	+ 0,37	0,12	0,17	-0,14
ColorCa	- -0,25	+ 0,28	0,04	-0,17	0,04	0,01
ColorAnt	0,13	- -0,26	+ 0,37	0,12	0,17	-0,14
UnionCor	+ 0,32	-0,07	0,00	-0,06	0,02	-0,05
LongPe	+ 0,31	0,09	0,08	-0,11	-0,18	0,06
PropVai	+ 0,21	-0,06	-0,19	+ 0,26	+ 0,29	0,14
LongLob	+ 0,18	+ 0,29	0,15	- -0,26	0,09	-0,10
LongHoj	+ 0,27	+ 0,20	0,06	-0,10	-0,06	-0,03
AnchHoj	+ 0,26	+ 0,28	0,05	0,14	-0,20	0,02
PropAnc	-0,07	0,08	-0,02	+ 0,43	- -0,45	0,16
LongVen	+ 0,27	+ 0,27	0,14	-0,09	-0,15	-0,06
DesnVeBa	0,06	-0,09	0,16	+ 0,40	- -0,42	-0,23
NParVen	0,09	+ 0,39	0,05	-0,01	0,14	0,10
NHojMes	+ 0,23	-0,14	-0,17	0,14	-0,06	0,26
NHijos	0,08	0,02	- -0,47	-0,02	-0,14	-0,31
LongTall	0,09	+ 0,23	-0,32	+ 0,31	+ 0,29	-0,03
NCorm	+ 0,20	-0,15	-0,21	0,06	-0,11	- -0,40
PropCorG	0,07	-0,16	0,03	0,02	-0,08	+ 0,67
DiamTall	+ 0,32	0,05	-0,05	0,08	0,04	0,12
PropMA	0,03	0,14	+ 0,44	0,17	0,04	-0,07
PropCC	-0,14	0,18	0,10	+ 0,45	+ 0,30	-0,01
PropCorm	0,14	- -0,39	-0,03	-0,09	0,12	-0,06
Estadísticos						
λ_k^2	8,26	3,89	2,79	1,93	1,40	1,27
Diferencia ³	4,37	1,10	0,86	0,53	0,13	0,29
Proporción ⁴	0,34	0,16	0,12	0,08	0,06	0,05
Acumulado	0,34	0,51	0,62	0,70	0,76	0,81

Nota: ¹. Significancia estadística del autovalor determinada acorde a la regla de Jolliffe 2002, significativos +/- . ². Autovalor del componente principal. ³. Diferencia al siguiente componente. ⁴. Proporción de la variabilidad explicada por el componente.

Las accesiones del *X. mafaffa* (Tm, Tb-2, Tb-03, Tb-09, Ts-03, Ts-13 y Ts-14M) se encontraron agrupadas en este análisis gráfico (Figura 2.8), con algunas ligeramente disgregadas, debido posiblemente a la diversidad de los caracteres cuantitativos observada. Otro grupo, mucho más compacto, es el conformado por las accesiones de *X. robustum* (Tb-02, Tb-04, Tb-07, Tb-08, Tb-10, Tb-11, Tb-12, Tb-14, Tb-15, Tb-17, Tb-19, Tb-21a,

amarillos, un agrupamiento mixto de todas las variedades cultivadas (Tb y Tm) y la separación de los tipos silvestres. No obstante, la interpretación exacta de estos resultados no es factible, ya que los agrupamientos no corresponden al nivel taxonómico, sino la similitud morfológica general de las accesiones, dada la combinación de las características vegetativas cuantitativas y cualitativas.

La dificultad para establecer agrupaciones por medio de un análisis jerárquico se ha observado anteriormente en accesiones de *Xanthosoma* (Mbouobda *et al.* 2007), así como en estudios sobre *Colocasia esculenta* (L.) Schott, otra aracea comestible con una alta diversidad de formas (Lebot *et al.* 2004, Okpul *et al.* 2004, Quero-García *et al.* 2004). Sin embargo, el análisis de componentes principales y otras metodologías estadísticas han sido utilizadas para entender las relaciones entre cultivares de zanahoria (*Daucus carota* L.) (Kumar *et al.* 2011), camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) (Elameen *et al.* 2011), melón (*Cucumis melo* L.) (Lotti *et al.* 2008), entre otros cultivos, así como para el esclarecimiento de las relaciones taxonómicas entre especies, como ya se mencionó anteriormente. *C. esculenta* no tiene los mismos problemas taxonómicos que el tiquizque, por lo que Lebot y colaboradores (2004) desarrollaron una herramienta de seis caracteres para clasificar las variedades de manera práctica, lo cual es muy útil para manejar recolectas y colecciones, pero que es pobre en criterio para determinar relaciones taxonómicas. En el caso de *Xanthosoma*, tradicionalmente se ha determinado la existencia de tres subtipos cultivados como una manera rápida de hacer este tipo de clasificaciones, utilizando como criterio el color interno del cormo y los cormelos, blancos, morados y amarillos (Esnard *et al.* 1993, Onokpise *et al.* 1992, O'Hair y Azocan 1986). No obstante, esta información es insuficiente a la luz de los resultados de este estudio, por lo que se requiere múltiples caracteres y una cuidadosa evaluación de cada accesión para clasificarla taxonómicamente. Para el tiquizque lo más importante en este momento es la clasificación taxonómica y la caracterización agronómica de las variedades, de tal manera que se pueda recolectar la diversidad genética del cultivo con criterios más claros dentro de las regiones donde se han encontrado las formas silvestres y donde se ha cultivado de manera tradicional. Además, la claridad taxonómica de los recursos genéticos permitirá su utilización en los programas de mejoramiento de manera más eficiente. La mayor de las confusiones taxonómicas históricas

surge al asignar a *X. sagittifolium* todas las especies cultivadas del tiquizque, o al menos las de corno de color blanco. No obstante, las plantas de *X. sagittifolium* realmente son muy distintas a otras formas cultivadas, tanto en sus características vegetativas como florales. En este sentido, el agrupamiento observado de las accesiones de tiquizque blanco en el análisis taxonómico numérico confirma que este grupo está correctamente separado de otras especies y su identificación como *X. robustum* ha sido aclarada.

Varios autores han citado a *X. violaceum* (una especie de porte mediano bajo, coloración lila en las hojas y pecíolos, pero con la lámina de la espata blanca y la constricción morada, flores estériles moradas y masculinas blancas, según se observó en colectas posteriores en campo) como la especie de los cultivares de corno morado (Lebot 2009, Torres *et al.* 2000, Schnell *et al.* 1999). Mediante el análisis taxonómico numérico y descriptivo realizado en este estudio se determinó que las accesiones moradas no corresponden a la anterior descripción, sino que pertenecen a *X. mafaffa* (con espata rosada y flores estériles y masculinas rosadas con variaciones de intensidad). Tanto *X. mafaffa* como *X. violaceum* se encontraron en colectas posteriores en la zona norte de Costa Rica en distribución simpátrica con los cultivos de tiquizque morado, pero no se observaron especímenes de características intermedias, por lo que hace falta un estudio sobre la capacidad de cruzamiento de estas dos formas “moradas”.

En otros casos el análisis morfológico ha resultado en determinación del estatus taxonómico de especies difíciles de separar, como el caso del estudio de dos especies de *Capsicum* L., en el cual se logró diferenciar morfológicamente entre dos especies, *C. frutescens* y *C. chinenses*, a partir de dos características florales y, estos resultados fueron respaldados por los análisis de marcadores RAPD y el ensayo de incompatibilidad reproductiva (Baral y Bosland 2004). Para confirmar los resultados aquí expuestos, el siguiente paso sería realizar análisis moleculares, tal como se han realizado en otros cultivos donde se han encontrado conflictos taxonómicos, como en *Camellia* (Vijayan *et al.* 2009), cítricos (Bayer *et al.* 2009) y algodón diploide (Small y Wendel 2000).

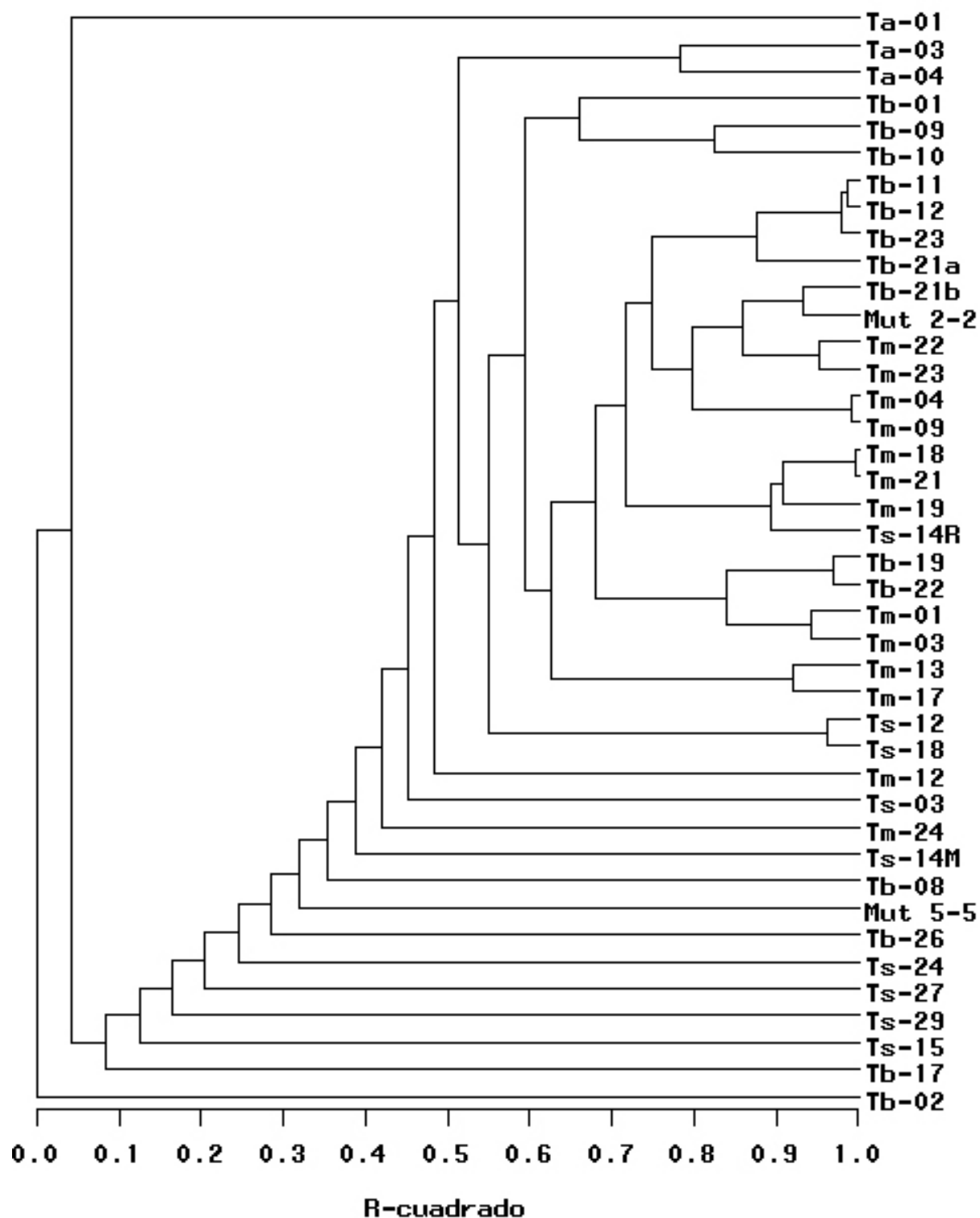


Figura 2.9. Análisis de conglomerados a partir por el método UPMCA a partir del cálculo de distancias de Mahalanobis de los caracteres morfológicos de las accesiones cultivadas y silvestres de *Xanthosoma* Schott.

Los tipos de tiquizque morados cultivados y los blancos probablemente sean todos interfértiles, según lo observado por Onokpise *et al.* (1992). Estos autores también informaron que las variedades amarillas no son compatibles con las moradas y blancas, por lo que se considera que existe una barrera genética, probablemente relacionada al número cromosómico o a algún factor aún desconocido. Además, falta por confirmar la capacidad de cruzamiento de *X. atrovirens*, *X. caracu* y *X. sagittifolium* y las especies silvestres aquí estudiadas con el tiquizque blanco y morado. Esto es de gran importancia, debido al potencial de introgresar características de interés a las líneas de mejoramiento, principalmente las relacionadas con tolerancia o resistencia a enfermedades.

El tiquizque fue domesticado por los indígenas americanos, y fue distribuido mediante el comercio en toda la cuenca del Caribe, por lo que se hallan formas cultivadas en toda esta área (León 1968). Los cormelos de tiquizque pueden mantenerse por mucho tiempo viables y comestibles, por lo que su factibilidad de su transporte durante migraciones e intercambios comerciales indígenas es muy alta. Sin embargo, la distribución actual del cultivo en Mesoamérica y el Caribe pudo ser producida por estos movimientos y no reflejaría el centro de origen del cultivo. Es hasta ahora que se logra aclarar el estatus taxonómico y correlacionar los cultivares con las formas silvestres, de tal manera que se puede establecer cuál o cuáles son los centros de origen del cultivo.

En sentido práctico, para los cultivos propagados vegetativamente, como el tiquizque, la domesticación implica la selección basal de formas silvestres con partes subterráneas comestibles (selección de morfotipos y quimiotipos), su propagación (clonación) y puesta en cultivo (Lebot *et al.* 2005). Para el tiquizque este proceso de domesticación debió ocurrir en distintos lugares a partir de diferentes especies con características semejantes (presencia de cormelos de palatabilidad aceptable). Este proceso de domesticación y dispersión de un cultivo americano precolombino por parte de los indígenas, ha sido estudiado más ampliamente en el caso de la yuca, *Manihot esculenta* Crantz (Nassar 2001). La yuca tiene su centro de origen localizado en Brasil, pero además tiene un centro de diversidad en México, posiblemente desarrollado por la producción de híbridos naturales entre los

materiales cultivados dispersados por las poblaciones indígenas en sus migraciones. Sin un adecuado estudio taxonómico y biogeográfico, la existencia de tal diversidad genética de la yuca en dos regiones distantes podría interpretarse como eventos de domesticación distintos. Lo opuesto ha sido la interpretación de lo observado en el tiquizque, donde la presencia de diversas formas en las islas del Caribe y las confusiones taxonómicas han dado base a la suposición de que el centro de origen se encuentra en ellas o en Venezuela. En el caso del *X. sagittifolium*, el centro de origen se atribuye a las islas de Indias Occidentales en el Caribe (Jonker-Verhoeff y Jonker 1968), aunque la información taxonómica que respalda estas afirmaciones es poco clara o insuficiente, aun en los estudios más recientes (Acevedo-Rodríguez y Nicolson 2005).

Las observaciones de campo durante este estudio, y las desecatas conservadas en herbarios (CR, INBIO y USJ), y las exploraciones botánicas previas (Grayum 2003, Standley 1937), muestran una gran diversidad de cultivares morados y formas silvestres muy semejantes que se encuentran en el territorio nacional, por lo que Costa Rica tiene altas posibilidades de ser parte del centro de origen de esta forma cultivada. Estudios botánicos en Guatemala (Standley y Steyermark 1958), Nicaragua (Croat y Stiebel 2001) y Panamá (Standley 1944), indican la presencia de formas silvestres con presencia de antocianinas, aunque las descripciones son incompletas o confusas, por lo que no queda claro a qué especie se refieren. Faltan más estudios en la región centroamericana para definir cuál es el centro de origen y el área de diversidad del tiquizque morado. Por su parte, la especie *X. robustum* ha sido identificada como originaria del sur de México (CONABIO 2011, Gonçalves 2011), y posiblemente se encuentre en las zonas bajas y húmedas de Guatemala (Standley y Steyermark 1958), por lo que el origen del tiquizque blanco estaría en esa región. Estos resultados preliminares son congruentes con la propuesta de Vavilov (1926) de que el centro de origen en del tiquizque se encuentra en Centro América.

Literatura Citada

- Acevedo-Rodríguez, P y Nicolson, DH. 2005. Family 1: Araceae, *Philodendron* family. In: Acevedo-Rodríguez, P y Strong, MT (eds.). Monocots and gymnosperms of Puerto Rico and Virgin Islands. Smithsonian Instit. Contrib. USA Nat. Herbarium 52: 21-52.
- Alamu, S, McDavid, CR. 1985. Genetic variability in tannia (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). Trop. Agric. (Trinidad) 62:30-32.
- Alamu, A y McDavid, CR. 1978a. Promotion of flowering in edible aroids by gibberellic acid. Trop. Agric. (Trinidad) 55:81-86.
- Alamu, A y McDavid, CR. 1978b. Effect of time and method of application of gibberellic acid on the growth and promotion of flowering in tannia (*Xanthosoma sagittifolium*). Trop. Agric. (Trinidad) 55:235-241.
- Baral, JB y Bosland, PW. 2004. Unraveling the species dilemma in *Capsicum frutescens* and *C. chinense* (Solanaceae): a multiple evidence approach using morphology, molecular analysis, and sexual compatibility. J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 129:826-832.
- Bayer, RJ, Mabberley, DJ, Morton, C, Miller, CH, Sharma, IK, Pfeil, BE, Rich, S, Hitchcock, R y Sykes, S. 2009. Molecular Phylogeny of the orange subfamily (Rutaceae: Aurantioideae) using nine CPDNA sequences. Am. J. Bot. 96:668-685.
- Blas, R, Ghislain, M, Herrera, MR y Baudoin, JP. 2008. Genetic diversity analysis of wild *Arracacia* species according to morphological and molecular markers. Genet. Resour. Crop Evol. 55:625-642.
- Blazquez, MA, Green, R, Nilsson, O, Sussman, MR y Weigel, D. 1998. Gibberellins promote flowering of Arabidopsis by activating the LEAFY promoter. Plant Cell 10:791-800.
- Brown, J y Caligari, P. 2009. Introduction to Plant Breeding. Blackwell Pub., Oxford. 209 p.
- Chen, J, Henny, RJ, McConnell, DB y Caldwell, RD. 2003. Gibberellic acid affects growth and flowering of *Philodendron* 'Black Cardinal'. Plant Growth Regul. 41:1-6.
- Chouteau, M, Gibernau, M y Barabé, D. 2008. Relationship between floral characters, pollination mechanisms, life form and habitats in Araceae. Bot. J. Linn. Soc. 156:29-42.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2011. Base de datos Biodiversidad Mexicana: búsqueda *Xanthosoma*. Online: <http://www.biodiversidad.gob.mx/http://www.google.com/cse?cx=004982940005917625626%3Awpguwhc0c0w&ie=UTF-8&q=xanthosoma&sa>. Consultado junio 2011.

- Croat, TB. 1985. Collecting and preparing specimens of Araceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 72:252-258.
- Croat, TB y Stiebel, T. 2001. Araceae Juss. *In: Stevens, WD, Ulloa-Ulloa, C, Pool, A y Montiel, OM (eds.). Flora de Nicaragua. Tomo I. MBG Press, MI. Pp. 136-188.*
- EASAC (European Academies Science Advisory Council). 2011. Plant genetic resources for food and agriculture: roles and research priorities in the European Union. *Pub. Academia Alemana de las Ciencias Naturales Leopoldina, Haale. 49 p.*
- Elameen, A, Larsen, A, Klemsdal, SS, Fjellheim, S, Sundheim, L, Msolla, S, Masumba, E y Rognli, OA. 2011. Phenotypic diversity of plant morphological and root descriptor traits within a sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. germplasm collection from Tanzania. *Genet. Resour. Crop Evol.* 58:397-407.
- Esnard, J, Ferwerda, E, Rivera-Amador, E y Hepperly, PR. 1993. Induction of tetraploidy in the tannier cultivar var. "Inglesa" (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Plant Breed.* 111:335-338.
- ESRI (Environmental Systems Research Institute Inc.). 2002. Arc View v. 3.3. USA.
- De Langhe, E, Pillay, M, Tenkouano, A y Swennen, R. 2005. Integrating morphological and molecular taxonomy in *Musa*: the African plantains (*Musa* spp. AAB group). *Plant Syst. Evol.* 255:225-236.
- Fenster, CB, Armbruster, WS, Wilson, P, Dudash, MR y Thompson, JD. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:375-403.
- Ferreira-Jorge, LI, Franco-Moreira, T y de Oliveira-Ferro, V. 1986. *Xanthosoma atrovirens* C. Koch e Bouché (taioba): principais características morfológicas e anatômicas. *Rev. Bras. Farmacogn.* 1:154-165.
- Franco, TL e Hidalgo, R. (eds.). 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico N° 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- García-Robledo, C, Quintero-Marín, P y Mora-Kepfer, F. 2005. Geographic Variation and Succession of Arthropod Communities in Inflorescences and Infructescences of *Xanthosoma* (Araceae). *Biotrop.* 37:650-656.
- Giacometti, DC y León, J. 1994. Tannia, yautia. Neglected crops: 1492 from a different perspective. *FAO Plant Production and Protection Series, No.26. Roma, FAO. Pp. 253-258.*

- Goldwasser, L. 2000. Scarab beetles, elephant ear (*Xanthosoma robustum*) and their associates. In: Nadkarni, NM y Wheelwright, NT (eds.). Monteverde: Ecology and conservation of a tropical cloud forest. Oxford U. Press, Oxford. Pp. 268-271.
- Gonçalves, EG. 2011. The commonly cultivated species of *Xanthosoma* Schott (Araceae), including four new species. *Aroideana* 34:3-34.
- Grayum, MH. 2003. Araceae. In B Hammel, MH Grayum y E Zamora (eds.). Manual de plantas de Costa Rica, Vol. III: gimnospermas y monocotiledóneas (Agavaceae – Musaceae). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 59–199.
- Guarino, L, Maxted, N, y Chiwona EA. 2005. Ecogeography of Crops. IPGRI Technical Bulletin No. 9. International Plant Genetic Resources Institute, Roma. 55 p.
- Hartshorn, GS. 1991. Plantas. In: Janzen, DH (ed.). Historia Natural de Costa Rica. Ed. UCR, San Pedro. Pp. 119-160.
- Henny R.J., Norman D.J. and Kane M.E. 1999. Gibberellic acid induced flowering of *Syngonium podophyllum* Schott ‘White Butterfly’. *HortScience* 34:676–677.
- Henny, R. 1995. Stimulating flowering of ornamental aroid genera with gibberellic acid: a review. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 108:23-24.
- Henny, RJ y Hamilton, RL. 1992. Flowering of *Anthurium* following treatment with gibberellic acid. *HortScience* 27:1328.
- Henny, RJ. 1983. Flowering of *Aglaonema commutatum* ‘Treubii’. *HortScience* 18:374.
- Hancock, JF, Serçe, S, Portman, CM, Callow, PW y Luby, JJ. 2004. Taxonomic variation among North and South American subspecies of *Fragaria virginiana* Miller and *Fragaria chiloensis* (L.) Miller. *Can. J. Bot.* 82:1632-1644.
- Horvath, D. 2009. Common mechanisms regulate flowering and dormancy. *Plant Sci.* 177:523–531.
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional). 2012. El clima de Costa Rica y variabilidad climática. Online: <http://www.imn.ac.cr/educacion/clima%20de%20costa%20rica.html>. Consultado: Julio 2012.
- Johnson, DE. 1998. Applied Multivariate Methods for Data Analysis. Duxury Press, Pacific Grove. 567 p.
- Jolliffe, I.T. 2002. Principal Component Analysis. 2^{da} ed. Springer, Berlin. 487 p.
- Jonker-Verhoeff, AME y Jonker, FP. 1968. Araceae. In: Pulle, AA y Lanjouw, J (eds.). Flora of Suriname. Van Eedenfonds, Amsterdam. Pp. 1-80.

- Jordán-Molero, FL. 1979. Preliminary work with taniér (*Xanthosoma* spp.) hybridization in Puerto Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico. 63:469-473.
- Kaufman, L y Roseeuw, PJ. 1990. Finding groups in data: an introduction to cluster analysis. Wiley, New York. 368 p.
- Kumar, R, Vashisht, P, Gupta, RK, Singh, M y Kaushal, S. 2011. Characterization of european carrot genotypes through principal components and regression analysis. Internat. J. Veg. Sci. 17:3-12.
- Kumar, GP, Subba-Rao, MV y Manga, V. 2007. Assessment of morphological variation in *Dioscorea* L. using numerical analysis. Phytomorph. 57:95-102.
- Laguna, IG, Salazar, LG y López, JF. 1983. Enfermedades fungosas y bacterianas de las aráceas de Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 30 p.
- Lebot, V. 2009. Tropical root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids. Crop Production Science in Horticulture Series N° 17. CABI, Wallington, UK. Pp. 285-300.
- Lebot, V, Ivancic, A y Abraham, K. 2005. The geographical distribution of allelic diversity, a practical means of preserving and using minor root crop genetic resources. Exp. Agric. 41:475-489.
- Lebot, V, Prana, MS, Kreike, van Heck, N, Pardales, J, Okpul, T, Gendua, T, Thongjiem, M, Hue, H, Viet, N y Yap, TC. 2004. Characterization of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic resources in southeast Asia and Oceania. Genet. Resour. Crop Evol. 51:381-392.
- León, J. 1968. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. Ed. IICA, Lima. 487 p.
- Lotti, C, Marcotrigiano, AR, De Giovanni, C, Resta, P, Ricciardi, A, Zonno, V, Fanizza, G y Ricciardi, L. 2008. Univariate and multivariate analysis performed on bio-agronomical traits of *Cucumis melo* L. germplasm. Genet. Resour. Crop Evol. 55:511-522.
- MBG (Missouri Botanical Garden). 2011. Tropicos® Electronic Database: *Xanthosoma*. Online: <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Xanthosoma&commonname>. Consultado junio 2011.
- Mbouobda, HD, Boudjeko, T, Djocgoue, PF, Tsafack, TJJ y Omokolo, DN. 2007. Morphological characterization and agronomic evaluation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) germplasm in Cameroon. J. Biological. Sci. 7:27-33.
- Milián, M, Sánchez, I, García, M, Guerra, D y Corrales, A. 2001. Variabilidad genética en el género *Xanthosoma* de Cuba. Plant Genet. Resour. Newslt. 127:11-14.

- Moon, J, Suh, SS, Lee, H, Choi, KR, Hong, CB, Paek, NC, Kim, SG y Lee I. 2003. The SOC1 MADS-box gene integrates vernalization and gibberellins signals for flowering in *Arabidopsis*. *Plant J.* 35:613–623.
- Montaldo, A. 1991. Tiquizque. In A Montaldo (comp.). Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. San José, IICA. 408 p.
- Morton, JF. 1972. Cocoyams (*Xanthosoma caracu*, *X. atrovirens* and *X. nigrum*), ancient root- and leaf- vegetables, gaining economic importance. *Proc. Flo. St. Hortic. Soc.*:85-94.
- Nassar, N. 2001. Cassava, *Manihot esculenta* Cratz and wild relatives: their relationship and evolution. *Genet. Resour. Crop Evol.* 48:429-436.
- Naor, V, Kigel, J, Ziv, M y Flaishman, M. 2005. A developmental pattern of flowering in colored *Zantedeschia* spp.: effects of bud position and gibberellin. *J. Plant Growth Regul.* 23:269–279.
- Naor, V, Kigel, J y Ziv M. 2004. Hormonal control of inflorescence development in plantlets of calla lily (*Zantedeschia* spp.) grown *in vitro*. *Plant Growth Regul.* 42:7–14.
- Nicolson, DH. 1975. A new leptotypification of the genus *Xanthosoma* Schott (Araceae). *Taxon* 24: 345-347.
- Nzietchueng, S. 1983. La pourriture racinaire du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) au Cameroun: I. Syntomatologie de la maladie. *Agronomie Trop.* 38:321-325.
- Offei, SK, Asante, IK y Danquah, EY. 2004. Genetic structure of seventy cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*, Linn. Schott) accessions in Ghana based on RAPD. *Hereditas* 140: 123-128.
- O'hair, SK y Asokan, MP. 1986. Edible aroids: botany and horticulture. *Hortic. Rev.* 8:43-99.
- Okeke, SE. 1992. The correct nomenclature of the Nigerian species of *Xanthosoma* Schott (Araceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 110:267-275.
- Okpul, T, Singh, D, Gunua, T y Wagih, ME. 2004. Assessment of diversity using agromorphological traits for selecting a core sample of Papua New Guinea taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) collection. *Genet. Resour. Crop Evol.* 51:671-678.
- Onokpise, OU, Wutoh, JG, Ndzana, X, Tambong, JT, Meboka, MM, Sama, AE, Nyochembeng, L, Agueguia, A, Nzietchueng, S, Wilson, JG y Burns, M. 1999. Evaluation of Macabo Cocoyam Germplasm in Cameroun. In: J Janick y A Whipkey (eds.). *Perspectives on new crops and new uses*. Alexandria, VA, ASHS Press. Pp. 394-396.

- Onokpise, OU, Meboka, M y Wutoh, JG. 1992. Hybridization and fruit formation in macabo cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Ann. Appl. Biol.* 120:527-535.
- Pacumbaba, RP, Wutoh, JG, Eyango, SA, Tambong, JT y Nzietchueng, LM. 1992a. Isolation and pathogenicity of rhizosphere fungi of cocoyam in relation to cocoyam root rot disease. *J. Phytopath.* 135:265-273.
- Pacumbaba, RP, Wutoh, JG y Meboka, MM. 1992b. Protocols to screen cocoyam accesions for resistance or tolerant to cocoyam root rot disease in Cameroon. *Plant Dis.* 76:768-770.
- Pereira-Lorenzo, S, Ramos-Cabrera, AM y Ascasíbar-Errasti. 2003. Analysis of Apple Germplasm in Northwestern Spain. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 128:67-84.
- Quero-Garcia, J, Noyer, JL, Perrier, X, Marchand, JL y Lebot, V. 2004. A germplasm stratification of taro (*Colocasia esculenta*) based on agro-morphological descriptors, validation by AFLP markers. *Euphytica* 137:387-395.
- Saborío, F. 2007. Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). In Ochatt, S y Jain, SM. 2007. *Breeding of neglected and under-utilized crops, spices and herbs.* Science Pub., Nueva Jersey. Pp. 171-187.
- Saborío, F; Gómez, L; Torres, S; Valverde, R. 2000. Inducción floral en tiquizque (*Xanthosoma* spp.) en cinco regiones de Costa Rica. *Agron. Costarricense* 24:37-45.
- Saborío, F, Torres, S, Gómez, L. 1998. Development of a clean-planting-material production system on tropical root and tuber crops, using *in vitro* propagated plants. *Acta Hortic.* 461:495-501.
- SAS Institute Inc. 2004. *SAS/STAT 9.1 User's guide.* SAS Publishing, Cary, NC, SAS Institute. 5121 p.
- Schnell RJ, Goenaga, R y Olano, CT. 1999. Genetic similarities among cocoyam cultivars based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Sci. Hortic.* 80: 267-276.
- Small, RL y Wendel, JF. 2000. Phylogeny, duplication, and intraspecific variation of Adh sequences in New World diploid cottons (*Gossypium* L., Malvaceae). *Mol. Phylog. Evol.* 16:73-84.
- Standley, PC y Steyermark, JA. 1958. *Flora of Guatemala.* Fieldiana Bot. ser. 24:1-478.
- Standley, PC. 1944. *Flora of Panamá. Part II: Araceae.* Ann. Missouri Bot. Gard. 31:1-60.
- Standley, PC. 1937. *Flora of Costa Rica. Part I.* Field Mus. Nat. Hist. Bot. ser. 18:1-398.

- Tambong, JT, Ndzana, X, Wutoh, JG y Dabson, R. 1997. Variability and germplasm loss in the Cameroon national collection of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* Schott (L.)). *Plant Genet. Res. Newsltr.* 112: 49-54.
- Thompson, SA. 1989. Descriptors for *Xanthosoma*. International Board for Plant Genetic Resources. Roma. 30 p.
- Torres, S, Gómez, L, Saborío, F y Valverde, R. 2000. Comportamiento en el campo de siete genotipos de tiquizque (*Xanthosoma* spp.) propagados *in vitro*. *Agron. Costarricense* 24:7-17.
- Van Hintum, TJJ y Knüpffer, H. 1995. Duplication within and between germplasm collections I. Identifying duplication on the basis of passport data. *Genetics* 42:127-133.
- Vavilov, NI. 1926. Origin and Geography of Cultivated Plants. (Ruso). *Bull. Appl. Bot. Plant Breed.* 16:3-248.
- Vijayan, K, Zhang, W-J y Tsou, C-H. 2009. Molecular taxonomy of *Camellia* (Theaceae) inferred from nrITS sequences. *Am. J. Bot.* 96:1348-1360.
- Wilson, RN, Heckman, JW y Somerville, CR. 1992. Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days, *Plant Physiol.* 100:403-408.
- Wilson, JE. 1984. Cocoyam. *In*: Goldsworthy, PR y Fisher, NM (eds.) *The Physiology of Tropical Field Crop*. Wiley, London. Pp. 589-605.

Capítulo III: Micropropagación de seis especies de *Xanthosoma* Schott (Araceae)

1. Resumen

Se estableció *in vitro* ápices caulinares de plantas adultas de de *X. dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. mexicanum*, *X. robustum*, *X. undipes* y *X. wendlandii* con un protocolo utilizado para tiquizque blanco. Se evaluó el efecto de la becílaminopurina (BA) y el thidiazuron (TDZ) sobre su multiplicación *in vitro*. Los explantes se desinfectaron mediante un lavado con agua, una inmersión en etanol al 70 % por un minuto, luego una inmersión en NaClO al 2,0% con 0,05% de Tween 20 por 15 minutos y, finalmente se hicieron tres enjuagues en agua destilada estéril. Para la introducción se utilizó el medio basal de Murashige y Skoog (1962), suplementado con 0,25 mg/L de BA, 3% de sacarosa y 0,2% de Phytigel, pH de 5,7. Para el ensayo de multiplicación se evaluaron las dosis de 3,0, 4,5 ó 6,0 mg/L de BA, y 0,5 ó 1,0 mg/L de TDZ. Se observaron diferencias significativas en la tasa de contaminación y de supervivencia del explante entre especies. No se halló diferencia en la tasa de oxidación de los explantes. El crecimiento en longitud, ancho de la base y número de hojas fue significativamente distinto entre especies. En la fase de multiplicación se observó un efecto significativo del tipo de regulador y la dosis. En general, el BA indujo brotes de mayor tamaño y con raíces, mientras que el TDZ indujo significativamente más brotes, pero de menor tamaño y sin raíces. Se demuestra que las distintas especies evaluadas en este estudio pueden micropropagarse.

Palabras clave: *Xanthosoma*, *in vitro*, micropropagación, TDZ, especies silvestres, *X. mafaffa*, *X. wendlandii*, *X. robustum*, *X. mexicanum*, *X. undipes*.

2. Introducción

El tiquizque es un cultivo poco atendido, perteneciente al género *Xanthosoma* Schott (Araceae), sobre el cual se han realizado pocos estudios sobre su diversidad genética cultivada y en estado silvestre (Saborío 2007). Una de las prioridades de conservación de los recursos de este cultivo es la creación de bancos de germoplasma que incluyan accesiones silvestres y el mantenimiento a mediano y largo plazo de este material. Las especies silvestres del género *Xanthosoma* se encuentran con frecuencia en orillas de caminos, bordes de bosques intervenidos, pastizales y como plantas arvenses en cultivos de tiquizque y otras especies (Grayum 2003, Chacón y Saborío, datos sin publicar). A pesar de estar fuera de las prácticas de fitoprotección del cultivo, no se ha informado que estas plantas silvestres muestren síntomas de Dasheen Mosaic *Potyvirus* (DsMV), el virus más común de la familia Araceae (Zettler y Hartman 1987), o de la enfermedad conocida como mal seco, producida por *Pythium myriotylum* var. *araceae* (Perneel *et al.* 2006), por lo que son importantes fuentes de diversidad a conservar y utilizar en programas de mejoramiento genético.

El cultivo *in vitro* de plantas permite la conservación, la limpieza de enfermedades, la propagación y el mejoramiento genético de los cultivos (Neumann *et al.* 2009, George 2008). Esta es una de las metodologías más adecuadas para la conservación y utilización de los recursos genéticos (Sánchez-Chiang y Jiménez 2010, Sarasan *et al.* 2006, Ashmore 1997), lo cual se ha demostrado con las metodologías simples, económicas y rápidas que se han establecido para la introducción y conservación *in vitro* en varios cultivos de raíces y tubérculos propagados vegetativamente, como la papa (Gopal *et al.* 2002, Lizarraga *et al.* 1989), el camote (Lizarraga *et al.* 1992, Jarret y Gawel 1991), y el ñame (Borges *et al.* 2004, Malaurie *et al.* 1998). No obstante, el cultivo *in vitro* de los recursos genéticos del tiquizque afronta retos, como la existencia de varias especies cultivadas y silvestres relacionadas, así como la falta de información sobre el cultivo *in vitro* de estas últimas.

Las especies del género *Xanthosoma* que han sido propagadas *in vitro* son los cultivares que producen cormelos comestibles, el *X. robustum* (sinónimo no válido = *X.*

sagittifolium), *X. mafaffa* (sinónimo no válido = *X. violaceum*) (Salazar *et al.* 1986), y el *X. caracu* (Strauss y Arditti 1980). Las primeras aplicaciones que se realizaron del cultivo *in vitro* del tiquizque fueron la producción de plantas libres del DsMV (Zettler y Hartman 1987, Hartman 1974), y posteriormente su multiplicación (Monge *et al.* 1987, Asokan *et al.* 1984, Strauss y Arditti 1980), lo cual dio como resultado la posibilidad de producir una gran cantidad de plantas libres de este virus para ser transferidas a los productores agrícolas (Saborío *et al.* 1998). También se ha utilizado el cultivo *in vitro* en este cultivo para el mejoramiento genético, mediante la duplicación de cromosomas (Tambong *et al.* 1998, Esnard *et al.* 1993) y la inducción de mutaciones (Saborío 2007). No hay trabajos realizados hasta ahora que se enfoquen en la conservación *in vitro* de germoplasma del tiquizque.

Los sistemas de propagación *in vitro* del tiquizque se han enfocado en el uso de auxinas y citoquininas para el establecimiento del material *in vitro*, tanto de los cultivares blancos como los morados (Vílchez *et al.* 2009, Gómez *et al.* 1992, Gómez *et al.* 1989, Monge *et al.* 1987, Quynh y Uyen 1987), en el medio de Murashige y Skoog (1962). La subsiguiente propagación se ha realizado principalmente con becílaminopurina (BA) y sólo en un caso se reporta el uso del thidiazuron (TDZ) en *Xanthosoma* (Nyochembeng y Garton 1998). Saborío y colaboradores (1998) determinaron que la mejor concentración para la propagación de tiquizque blanco y morado es de 3 mg/L de BA en medio semisólido de Murashige y Skoog (1962), adicionado con 30 g/L de sacarosa. Vílchez y colaboradores (2009) hacen el informe más reciente sobre el efecto del uso de BA en tiquizque blanco, en el cual concluyen que el BA es esencial para mejorar la efectividad del sistema de propagación y, que su efecto es acumulativo a través de los subcultivos. Otra especie de la que se ha informado su propagación *in vitro* es *X. caracu*, al cual se le logró micropropagar en presencia de BA y ácido naftalenacético (ANA) (Asokan *et al.* 1984) o kinetina y ANA (Strauss y Arditti 1980).

La conservación de los recursos genéticos del tiquizque requieren el establecimiento de bancos de germoplasma, ya sean *in situ* o *ex situ*, aunque por la seguridad fitosanitaria y el bajo costo de mantenimiento, la conservación de estos bancos de germoplasma en

condiciones *in vitro* es posiblemente la mejor opción. Para lograr esto se desarrolló el presente estudio, en busca de metodologías adecuadas para la introducción, regeneración y multiplicación *in vitro* de diferentes especies *Xanthosoma* presentes en Costa Rica.

3. Materiales y Métodos

3.1 Material vegetal

Se utilizaron plantas silvestres de las especies *Xanthosoma dealbatum*, *X. mafaffa* (sinónimo hortícola *X. violaceum*), *X. mexicanum*, *X. robustum* (sinónimo hortícola *X. sagittifolium*), *X. undipes* y *X. wendlandii*. Los explantes para la introducción *in vitro* fueron ápices caulinares obtenidos de plantas adultas recolectadas en campos de otros cultivos, zonas marginales, pastizales y bosques secundarios, excepto para *X. robustum*, para la cual se utilizaron plantas de una variedad de tiquizque blanco cultivado (Tb-01), mantenidas e campo por al Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas (LBP-CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

3.2 Desinfección e introducción

Los ápices fueron disectados de las plantas madre hasta obtener estructuras en forma rectangulares de 3 a 5 cm de largo y 1 cm de ancho. Estos se lavaron con agua para retirar los restos de suelo y luego fueron cortados hasta dejar el explante con forma rectangular con la base del cormo 0,5 a 1 cm de lado, más 2 cm de longitud de los pecíolos (Figura 3.1). Los explantes se sumergieron en etanol al 70% por un minuto y luego en hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,0% con 0,05% de Tween 20 por 15 minutos. Los explantes fueron enjuagados tres veces en agua destilada estéril en la cámara de flujo laminar, se eliminaron los restos de pecíolos hasta dejar una hoja completa entre 0,5 y 1 cm de longitud, con la base del cormo con forma de cubo de 2-3 mm de lado y posteriormente colocados en el medio de cultivo para introducción, hundiéndoles la base 1-2 mm. Se sembraron 15 explantes por especie. Los cultivos se mantuvieron a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 12

horas luz diaria provista por tubos fluorescentes (Sylvania 45 W), con aproximadamente 35 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.3 Ensayo de multiplicación

Las plántulas obtenidas luego de la introducción se colocaron en el medio basal para permitir su crecimiento durante 60 días. Las plantas producidas crecieron entre 5 y 8 cm de altura se utilizaron en el ensayo de multiplicación. A las plántulas se les eliminó el ápice caulinar para su multiplicación inicial y, los cormos se transfirieron a un medio utilizado para la micropropagación comercial del tiquizque blanco (Saborío *et al.* 1998). Se sembraron 20 explantes por tratamiento, cinco explantes por frasco. Las plántulas fueron subcultivadas cada 30 días en el medio de multiplicación por tres ocasiones, en cada subcultivo los brotes fueron defoliados. Finalmente los cormos brotados se colocaron en el medio basal por 30 días para su desarrollo. Los cultivos se mantuvieron en las condiciones antes descritas.

3.4 Medios de cultivo

Para el cultivo *in vitro* se utilizó un medio basal (MB) compuesto por las sales minerales completas y vitaminas de Murashige y Skoog (1962), suplementado con 0,1 g/L de meso-inositol, 30 g/L de sacarosa, 0,22 % de Gelrite, el pH ajustado a 5,7 con NaOH. Para la introducción de los explantes se utilizó el MB adicionado con 0,25 mg/L de BA, el cual fue vertido en tubos de ensayo 150 x 20 mm, en alícuotas de 15 ml. Para la fase de multiplicación inicial se utilizó el medio MB adicionado con 3,0 mg/L de BA vertido en alícuotas de 25 ml en frasco de colado para bebe, cubiertos con tapa B de Magenta®. Para la fase experimental de multiplicación se utilizó el medio MB vertido en alícuotas de 100 ml en frascos de cultivo con tapones de hule perforado obstruido con algodón y cubiertos con papel aluminio. Los medios de cultivo en frascos con tapa B de Magenta® se esterilizaron en autoclave por 25 minutos, mientras que los de tapón de hule por 15

minutos, ambos a 121 °C y 1,1 Kg cm⁻². Para el ensayo de multiplicación se evaluó el BA a 3,0, 4,5 ó 6,0 mg/L y el TDZ a 0,5 ó 1,0 mg/L, y un tratamiento sin BA ni TDZ.



Figura 3.1. Ápices caulinares de *Xanthosoma* sp. en proceso de eliminación de los pecíolos para su introducción *in vitro*. Barra de escala representa 1 cm.

3.5 Evaluación y análisis de resultados

Los ápices introducidos fueron evaluados para determinar la supervivencia, la tasa de oxidación, la presencia de contaminación, el crecimiento (altura de las plantas) y el desarrollo (producción de hojas y o raíces) a los 28 y 56 días después de la siembra (DDS). Los resultados de las tres primeras variables fueron analizados por el test de probabilidad logarítmica (*G*) para tablas de contingencia (Zar 2010), o análisis de varianza y prueba de homogeneidad de Tuckey (las restantes). En el ensayo de multiplicación se evaluó el número y morfología de los brotes por cada explante inicial luego de tres ciclos (90 días). Los resultados fueron analizados por análisis de varianza y prueba de homogeneidad de Tuckey.

4. Resultados

4.1 Desinfección e introducción

La introducción *in vitro* de la seis especies del género *Xanthosoma* Schott mostró diferencias significativas en cuanto a la proporción de explantes contaminados, así como en la proporción de explantes sobrevivientes y que formaron una plántula al final de la fase de introducción (Cuadro 3.1). Pocos explantes mostraron oxidación y la diferencia no fue significativa entre especies, y muchos explantes no murieron a pesar de mostrarla, por lo que la oxidación no se considera un factor limitante en esta fase del cultivo *in vitro* de material recolectado en el campo. De igual manera, los porcentajes de contaminación fueron relativamente bajos para la mayoría de las especies, aún tratándose de brotes recolectados en campo. Las únicas dos especies que mostraron un mayor grado de contaminación fueron *X. undipes* y *X. wendlandii*. El tipo de contaminantes observados fueron hongos, levaduras y bacterias.

Cuadro 3.1. Porcentajes de oxidación, contaminación y supervivencia de los explantes de especies del género *Xanthosoma* recolectadas en campo en Costa Rica.

Especie	Porcentaje Oxidación	Porcentaje Contaminación	Porcentaje Supervivencia
<i>X. dealbatum</i>	18,8	6,2	75,0
<i>X. mafaffa</i>	5,6	5,6	94,4
<i>X. mexicanum</i>	15,0	10,0	75,0
<i>X. robustum</i>	6,2	6,2	93,6
<i>X. undipes</i>	11,8	41,2	52,9
<i>X. wendlandii</i>	18,8	25,0	62,5
<i>G</i> ¹	3,016	16,149	46,587
<i>p</i>	>0,5	<0,01	<0,001

Nota: ¹. prueba de probabilidad logarítmica para tablas de contingencia.

El crecimiento subsiguiente a la etapa de introducción mostró variabilidad en la longitud del vástago, el ancho de la base y el número de hojas desarrolladas entre las distintas especies (Figuras 3.2, 3.3 y 3.4). La variación de estos caracteres es

estadísticamente significativa y presenta interacción entre las variables especie y DDS (Cuadro 3.2), lo cual implica diferencias en la tasa de crecimiento entre las especies. El análisis de varianza para los datos tomados a los 56 DDS mostró que las diferencias para las variables longitud de planta, ancho de la base y número de hojas fueron significativamente distintos entre especies (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.2. Análisis de Varianza factorial del crecimiento de los explantes de seis especies de *Xanthosoma* Schott cultivadas *in vitro*.

Origen de la varianza	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	F	Significancia
<u>Longitud:</u>					
Especie	13429.265	5	2685.853	25.394	< 0.001
DDS	19389.128	2	9694.564	91.659	< 0.001
Especie * DDS	17011.770	10	1701.177	16.084	< 0.001
Error	22528.504	213	105.768		
<u>Ancho:</u>					
Especie	209.905	5	41.981	20.311	< 0.001
DDS	1707.320	2	853.660	413.006	< 0.001
Especie * DDS	292.706	10	29.271	14.161	< 0.001
Error	440.259	213	2.067		
<u>Número Hojas:</u>					
Especie	117.042	5	23.408	61.288	< 0.001
DDS	131.297	2	65.649	171.882	< 0.001
Especie * DDS	69.813	10	6.981	18.279	< 0.001
Error	81.353	213	0.382		

Nota: F por valor de la prueba de Fisher para el Análisis de Varianza. DDS por Días Después de la Siembra. El medio utilizado contenía las sales y orgánicos de Murashige y Skoog (1962) con 30 g/L de sacarosa, 0,25 mg/L de BA y pH 5,7.

La longitud del vástago a los 28 DDS mostró un rápido crecimiento en *X. wendlandii*, que se incrementó aún más hasta los 56 días (promedio de 66,5 mm), fecha en la cual también se observó un crecimiento vigoroso del vástago las plántulas de *X. mexicanum* (promedio de 44,4 mm) (Figura 3.2). El crecimiento de estas dos especies es estadísticamente mayor al de las otras especies en estudio (Cuadro 3.3). Las otras especies crecieron principalmente en los primeros 28 días y luego mostraron un estancamiento.

La base del corno se ensanchó durante los primeros 28 días para todas las especies, pero se determinó que a los 56 días esta medida fue significativamente distinta entre especies (Cuadro 3.3), debido al mayor desarrollo presentado por *X. mexicanum*, el cual presentó una base mucho más grande (promedio de 13,4 mm) (Figura 3.3).

El número de hojas igualmente presentó variación significativa a los 56 días (Cuadro 3.3), con *X. mexicanum* y *X. wendlandii* como las especies que produjeron mayor cantidad (Figura 3.4), con una media de 3,8 y 3,6 hojas desarrolladas por plántula, respectivamente. El resto de las especies desarrollaron cerca de una única hoja por planta.

En conjunto, los datos muestran que las especies de *Xanthosoma* introducidas *in vitro* se dividen en dos grupos, uno con las especies de rápido crecimiento *in vitro* durante las primeras ocho semanas luego de su introducción, que incluye a *X. mexicanum* y *X. wendlandii*, y otro grupo con el resto de las especies, *Xanthosoma dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. robustum* y *X. undipes*, cuyos crecimientos se estancan a las cuatro semanas.

Cuadro 3.3. Análisis de Varianza del crecimiento de los explantes de seis especies de *Xanthosoma* Schott cultivadas *in vitro* a los 56 días de siembra.

Origen de la varianza	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	F	Significancia
<u>Longitud:</u>					
Especie	82878.378	6	13813.063	49.165	< 0.001
Error	19947.622	71	280.952		
<u>Ancho:</u>					
Especie	6163.618	6	1027.270	281.735	< 0.001
Error	258.882	71	3.646		
<u>Número Hojas:</u>					
Especie	380.706	6	63.451	71.177	< 0.001
Error	63.294	71	.891		

Nota: F por valor de la prueba de Fisher para el Análisis de Varianza. DDS por Días Después de la Siembra. El medio utilizado contenía las sales y orgánicos de Murashige y Skoog (1962) con 30 gr/L de sacarosa, 0,25 mg/L de BA y pH 5,7.

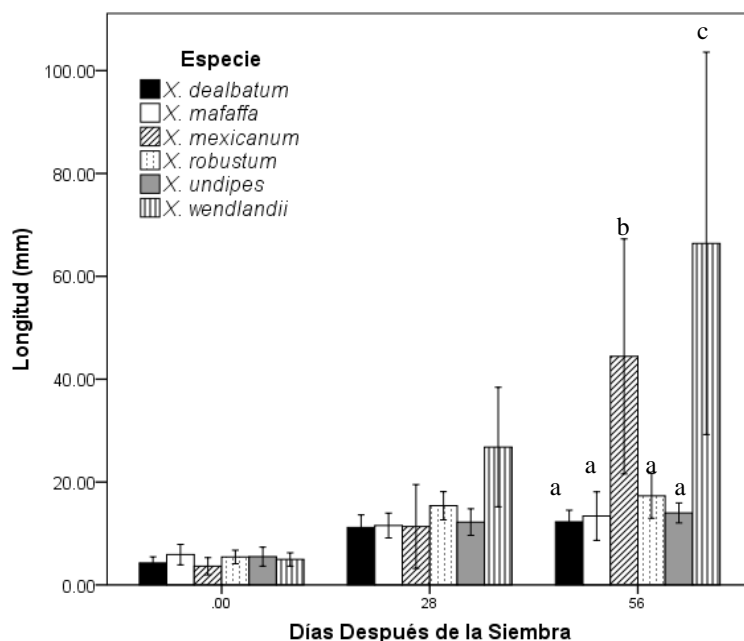


Figura 3.2. Longitud de las hojas de los ápices establecidos *in vitro* de seis especies de *Xanthosoma* Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días.

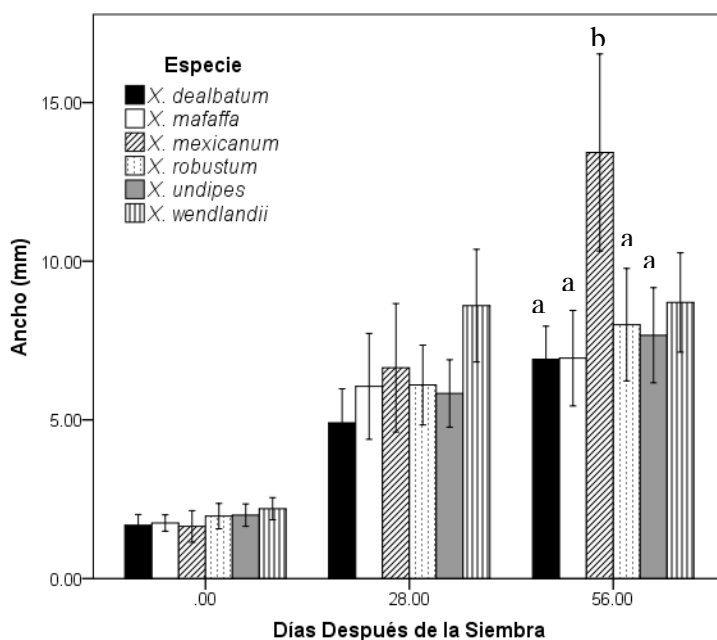


Figura 3.3. Ancho de los ápices sembrados *in vitro* de seis especies de *Xanthosoma* Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días.

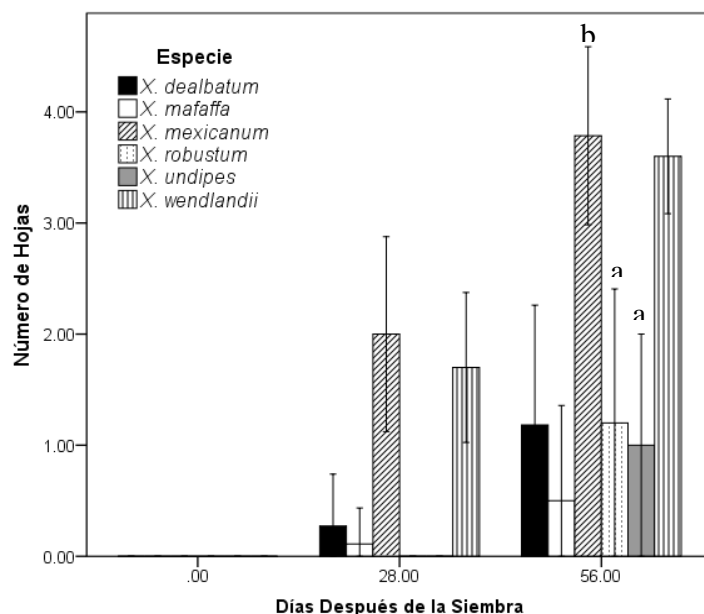


Figura 3.4. Número de hojas desarrolladas por los ápices sembrados *in vitro* de seis especies de *Xanthosoma* Schott en medio Murashige y Skoog (1962) con 0,25 mg/L de BA. Barra de error representa una desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas con la Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Tuckey en los datos de 56 días.

4.2 Multiplicación *in vitro*

Durante un ensayo preliminar con el medio para multiplicar tiquizque blanco (MB con 3 mg/L BA) se tuvieron problemas con la brotación de *X. mexicanum* y *X. undipes* (datos no mostrados), por lo que se estableció el presente ensayo de multiplicación con dosis mayores de BA y para determinar el efecto del TDZ en las especies en estudio. Los resultados de dicho ensayo mostraron un comportamiento distinto entre las especies estudiadas, entre los medios utilizados y, la interacción entre ambos factores (Cuadro 3.4). El efecto de los medios fue distinto para cada especie, por lo que se procedió a un análisis independiente para cada una.

La especie *X. dealbatum* produjo brotes simples o no brotó en el medio sin reguladores (T0, Figura 3.4), y produjo una cantidad ascendente de brotes conforme aumentó la concentración de BA, los cuales mantuvieron una morfología normal y una abundante

producción de raíces, con un 100% de los explantes con raíces en los tres tratamientos (Figura 3.6 B, C y D). La producción de brotes para *X. dealbatum* en el medio con 0,5 mg/L de TDZ (T4) fue la mayor, estadísticamente superior al medio T3 con 6 mg/L de BA, pero se inhibió la producción de raíces (Figura 3.6 E), igualmente que el medio T5 (1,0 mg/L TDZ). En este último, se observó menor cantidad de brotes y de menor tamaño (Figura 3.6 F). En los medios T4 y T5 se observó la formación de callo verde en las orillas del explante.

En todos los medios de cultivo *X. mafaffa* produjo brotes con pecíolos largos, con abundantes raíces, exceptuando en el T5 (Figura 3.7), en el cual se observó gran cantidad de brotes muy pequeños y difíciles de separar, aún después de 30 días de cultivo en medio sin reguladores. También se dio la formación de callo verde en los bordes del en el 100 % de los explantes en el medio T5 (Figura 3.7 F). En el medio sin reguladores T0, el *X. mafaffa* produjo 1 a 2 brotes con raíces, mientras que en la presencia de TDZ la producción de brotes fue significativamente superior en la dosis de 1,0 mg/L (Figura 3.5), aunque notablemente más pequeños.

El *X. mexicanum* produjo un número de brotes estadísticamente igual en el medio sin reguladores o en presencia de BA, mientras que en presencia de TDZ, la tasa de multiplicación se incrementó mucho más, con un máximo en la dosis de 0,5 mg/L (Figura 3.5). En los medios T0 a T3 se observó una morfología normal de los brotes con presencia de raíces, aunque con menor cantidad de raíces en la dosis mayor de BA (Figura 3.8 A, B, C y D). De manera contraria, en los medios con TDZ los brotes fueron pequeños y no presentaron raíces (Figura 3.8 E y F).

Cuadro 3.4. Análisis de Varianza del número de brotes producidos por seis especies de *Xanthosoma* Schott cultivadas *in vitro* diferentes dosis de BA o TDZ.

Origen de la varianza	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	F¹	Significancia
<u>Todas especies</u>					
Medio	22903.766	5	4580.753	108.620	< 0.001
Especie	6336.572	5	1267.314	30.051	< 0.001
Medio * Especie	19739.388	24	822.475	19.503	< 0.001
Error	69289.149	1643	42.172		
<u>X. dealbatum:</u>					
Medio	18808.942	6	3134.824	98.973	< 0.001
Error	9502.058	300	31.674		
<u>X. mafaffa:</u>					
Medio	73580.436	6	12263.406	120.926	< 0.001
Error	27178.564	268	101.413		
<u>X. mexicanum:</u>					
Medio	29569.209	6	4928.202	130.181	< 0.001
Error	10864.791	287	37.856		
<u>X. robustum:</u>					
Medio	9715.041	5	1943.008	70.982	< 0.001
Error	7034.959	257	27.373		
<u>X. undipes:</u>					
Medio	23212.840	6	3868.807	114.187	< 0.001
Error	10232.160	302	33.881		
<u>X. wendlandii:</u>					
Medio	13420.382	6	2236.730	114.419	< 0.001
Error	4476.618	229	19.549		

Nota: ¹. prueba de Fisher para el Análisis de Varianza.

En el caso de *X. robustum* o tiquizque blanco, se produjeron 1 ó 2 brotes en el medio T0, y la tasa de multiplicación se incrementó en los medios con presencia de BA, pero aún más con 0,5 mg/L de TDZ (T4 Figura 3.5 y 3.7 E). En el T5, con mayor cantidad de este regulador, se indujo la formación de brotes minúsculos y callogénesis, los cuales tendían a

necrosarse después de varias semanas (Figura 3.7 F), lo que impidió contabilizar la producción de brotes en este medio (Figura 3.5). La adición de reguladores de crecimiento empleados en este estudio redujo o eliminó la producción de raíces *in vitro* en esta especie (Figura 3.7 B, C, D, E y F).

La especie *X. undipes* se comportó de manera semejante a lo descrito para el *X. dealbatum* (Figuras 3.5 y 3.10), ya que aumentó la cantidad de brotes producidos conforme aumentaba la concentración de BA sin que se afectara la producción de raíces, mientras que en los medios con TDZ los brotes fueron muy pequeños, con raíces escasas o ausentes y con formación de callo (Figura 3.10 E y F).

En *X. wendlandii* se observó la producción de 2 a 3 brotes en el medio T0 y tasas de multiplicación bajas en casi todos los medios, con excepción del medio con 0,5 mg/L de TDZ, en el cual fue significativamente mayor (Figura 3.5). Los brotes producidos en presencia de TDZ fueron cortos y ligeramente deformes (Figura 3.11 D y E). En esta especie también se mantuvo la producción de raíces en los medios sin reguladores y con BA (Figura 3.11 A, B y C), pero esta fue impedida en los medios con TDZ (Figura 3.11 D y E).

En términos generales, la especie que produjo mayor cantidad de propágulos fue *X. mafaffa* (29,56 brotes promedio en T5), y las demás en orden descendente de brotación fueron: *X. mexicanum* (promedio de 16,14 brotes en T4), *X. undipes* (promedio de 12,94 brotes en T5), *X. wendlandii* (promedio de 11,1 brotes en T4), *X. dealbatum* (promedio de 10,56 brotes en T4) y *X. robustum* (9,23 brotes promedio en T4) (Figura 3.5).

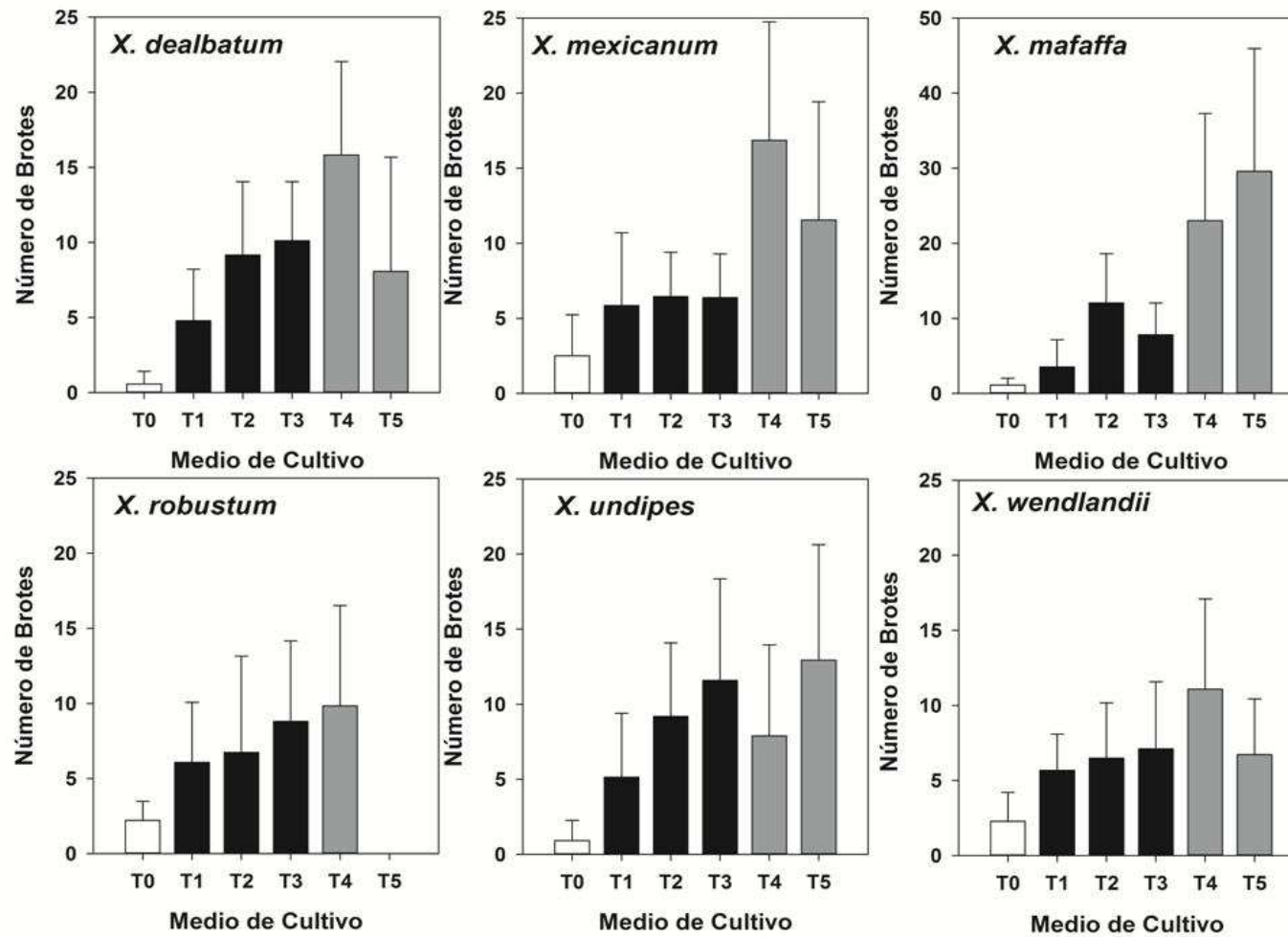


Figura 3.5. Producción de brotes en secciones de cormo de *Xanthosoma* spp. Schott en medios de cultivo de Murashige y Skoog (1962) modificados con uno de los siguientes reguladores de crecimiento vegetal: T0: sin regulador; T1: 3 mg/L de BA; T2: 4,5 mg/L de BA; T3: 6 mg/L de BA; T4: 0,5 mg/L de TDZ; T5: 1 mg/L de TDZ. Barra de error representa una desviación estándar.

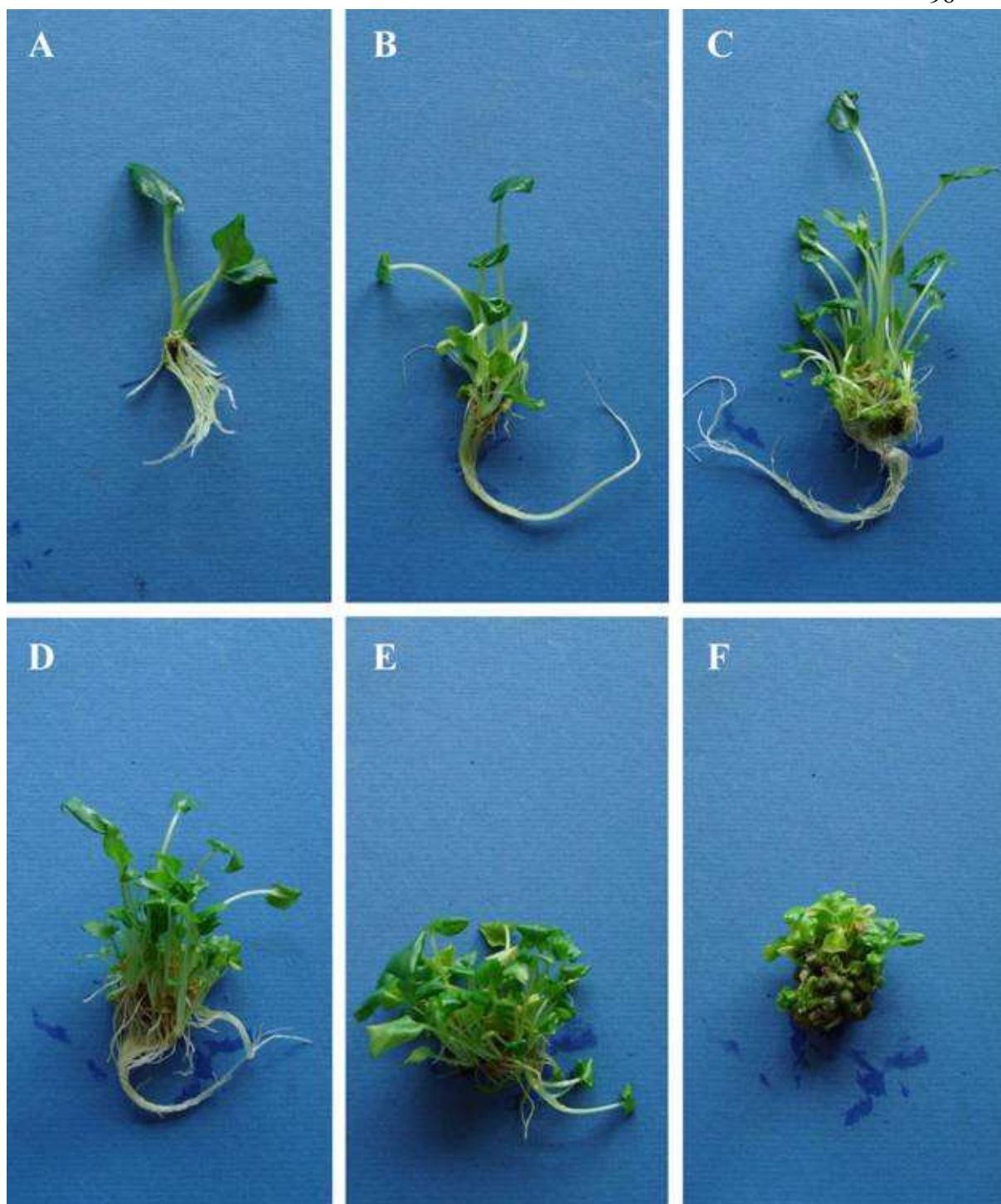


Figura 3.6. Brotes producidos *in vitro* de *X. dealbatum* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L.

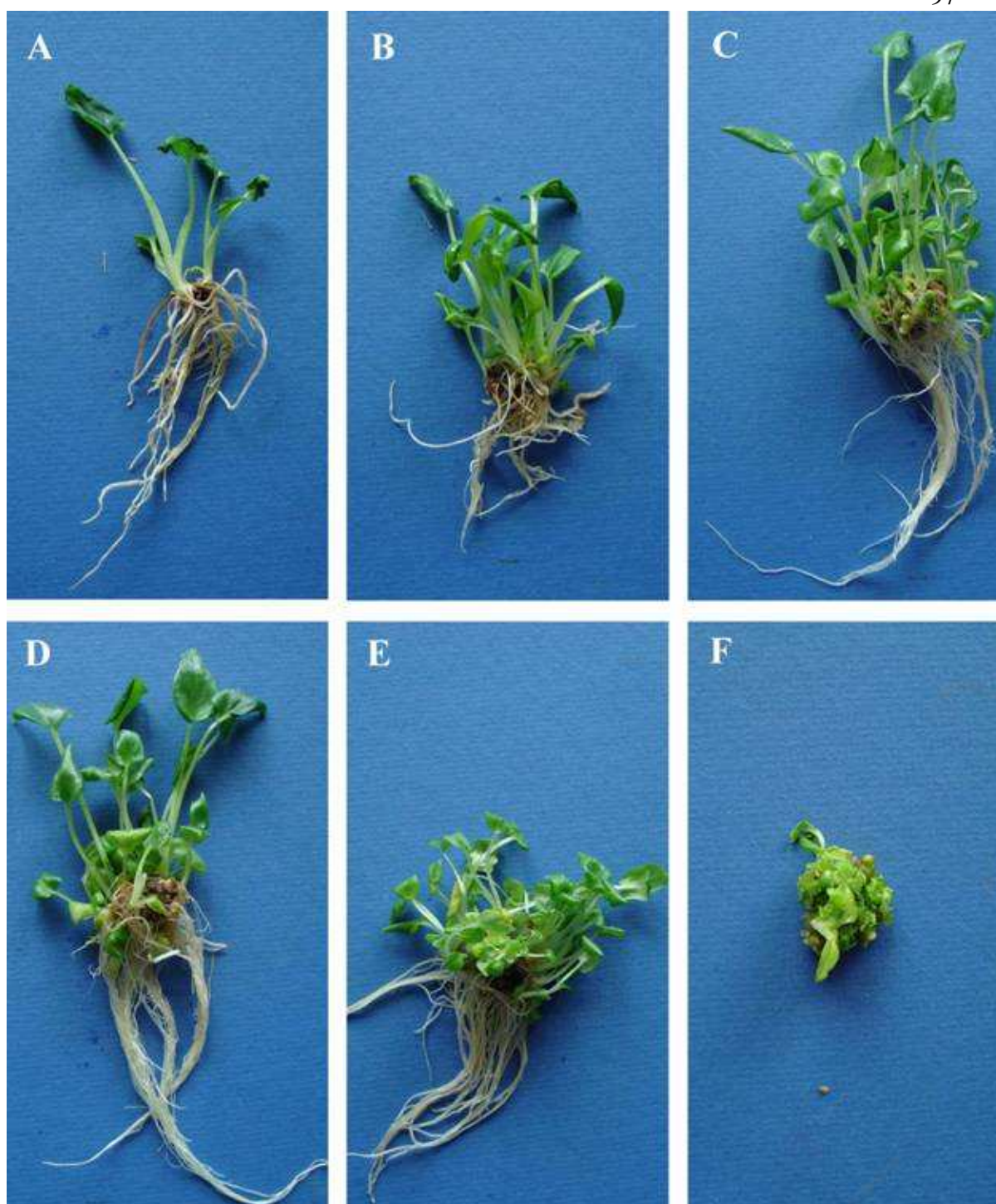


Figura 3.7. Brotes producidos *in vitro* de *X. mafaffa* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L.

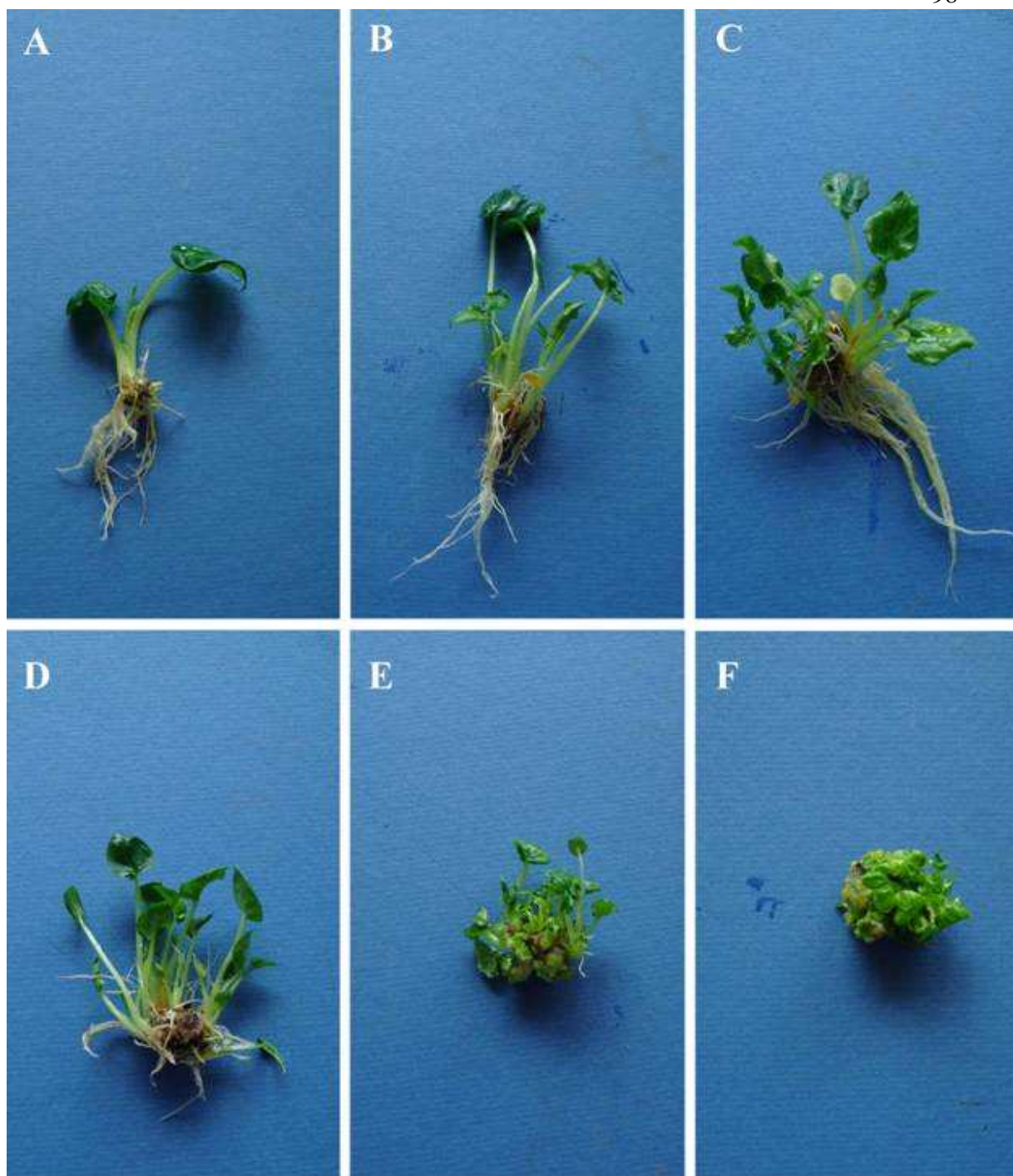


Figura 3.8. Brotes producidos *in vitro* de *X. mexicanum* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L.

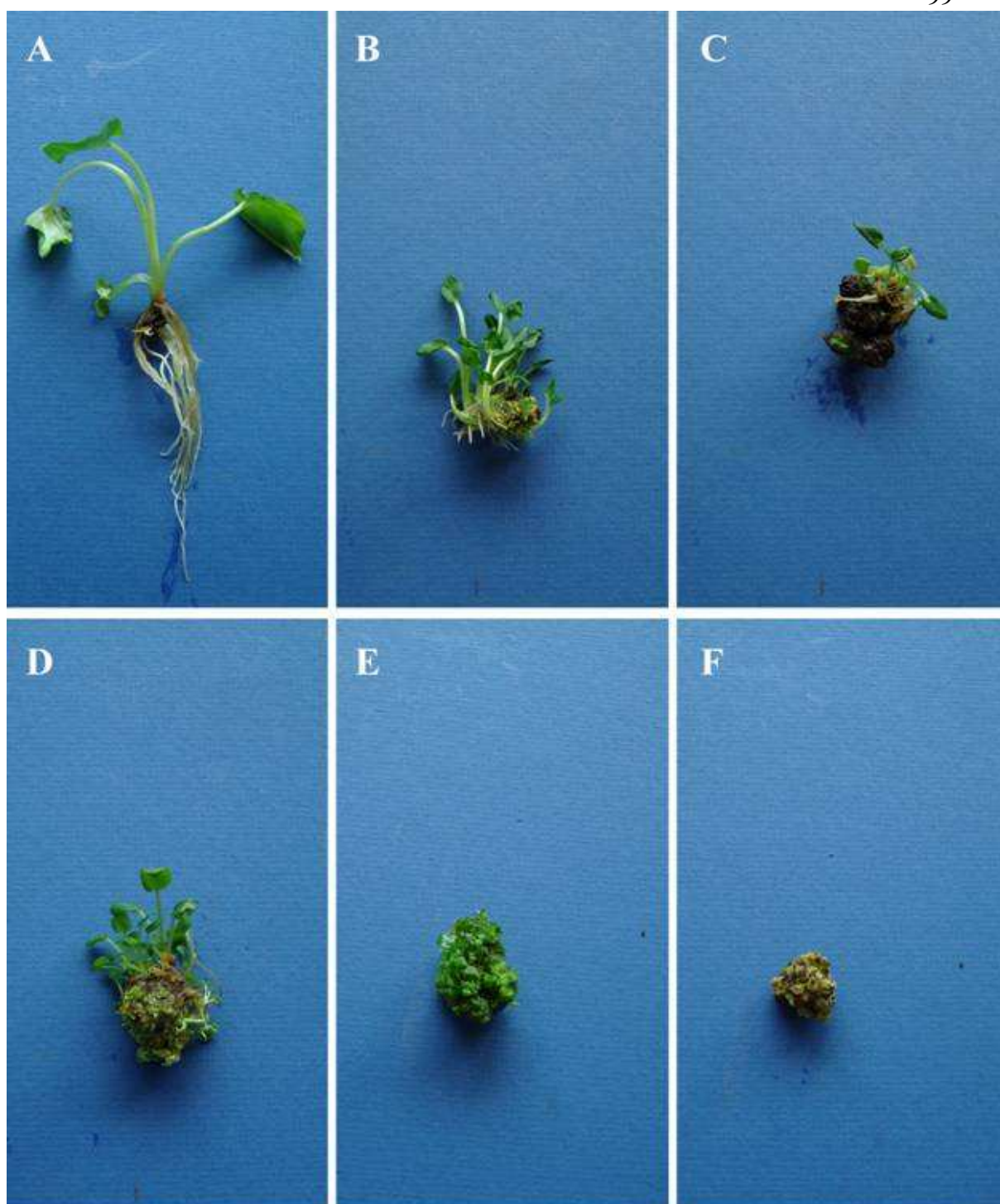


Figura 3.9. Brotes producidos *in vitro* de *X. robustum* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L.

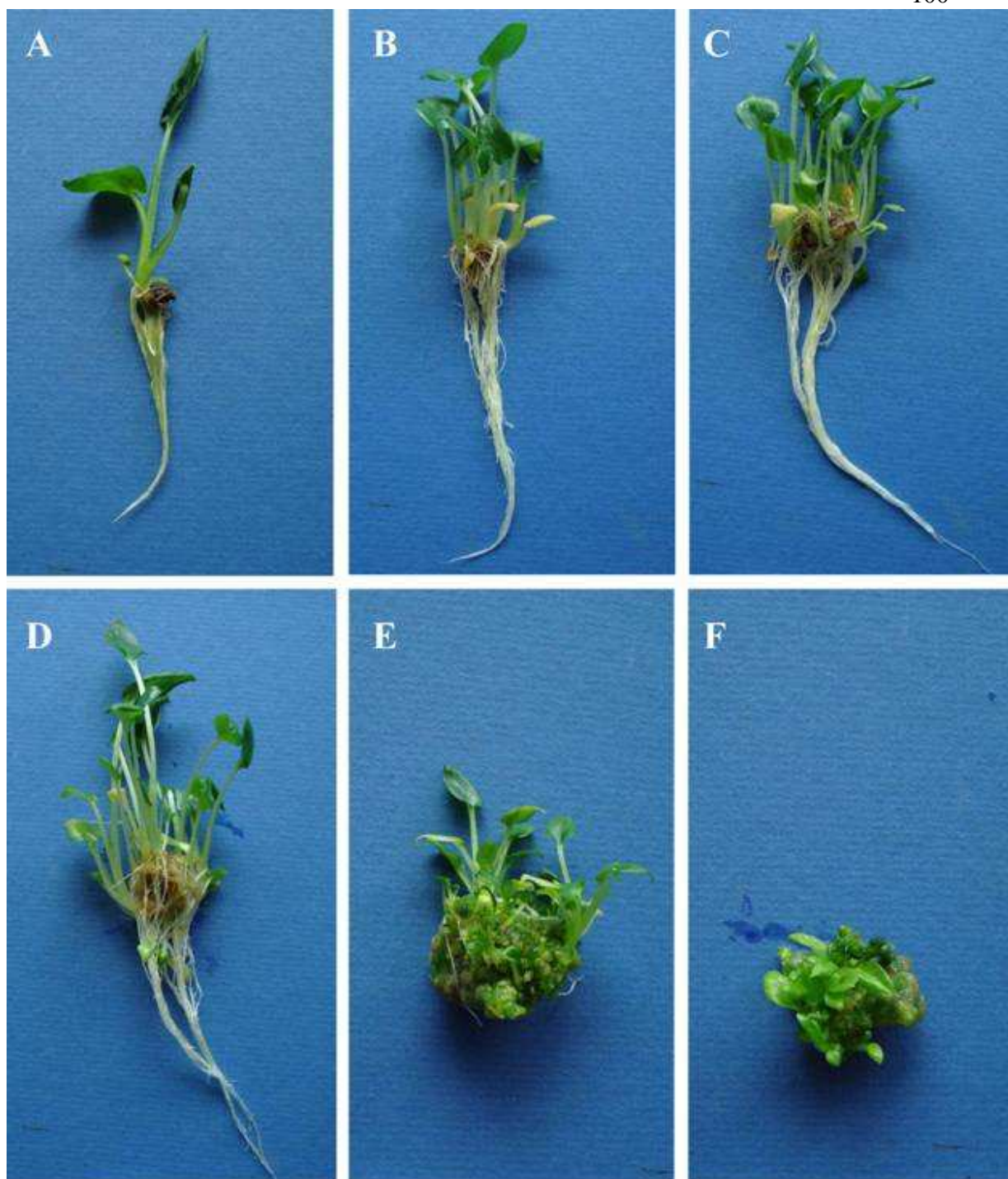


Figura 3.10. Brotes producidos *in vitro* de *X. undipes* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T3 BA 6 mg/L; E) T4 TDZ 0,5 mg/L; F) T5 TDZ 1 mg/L.

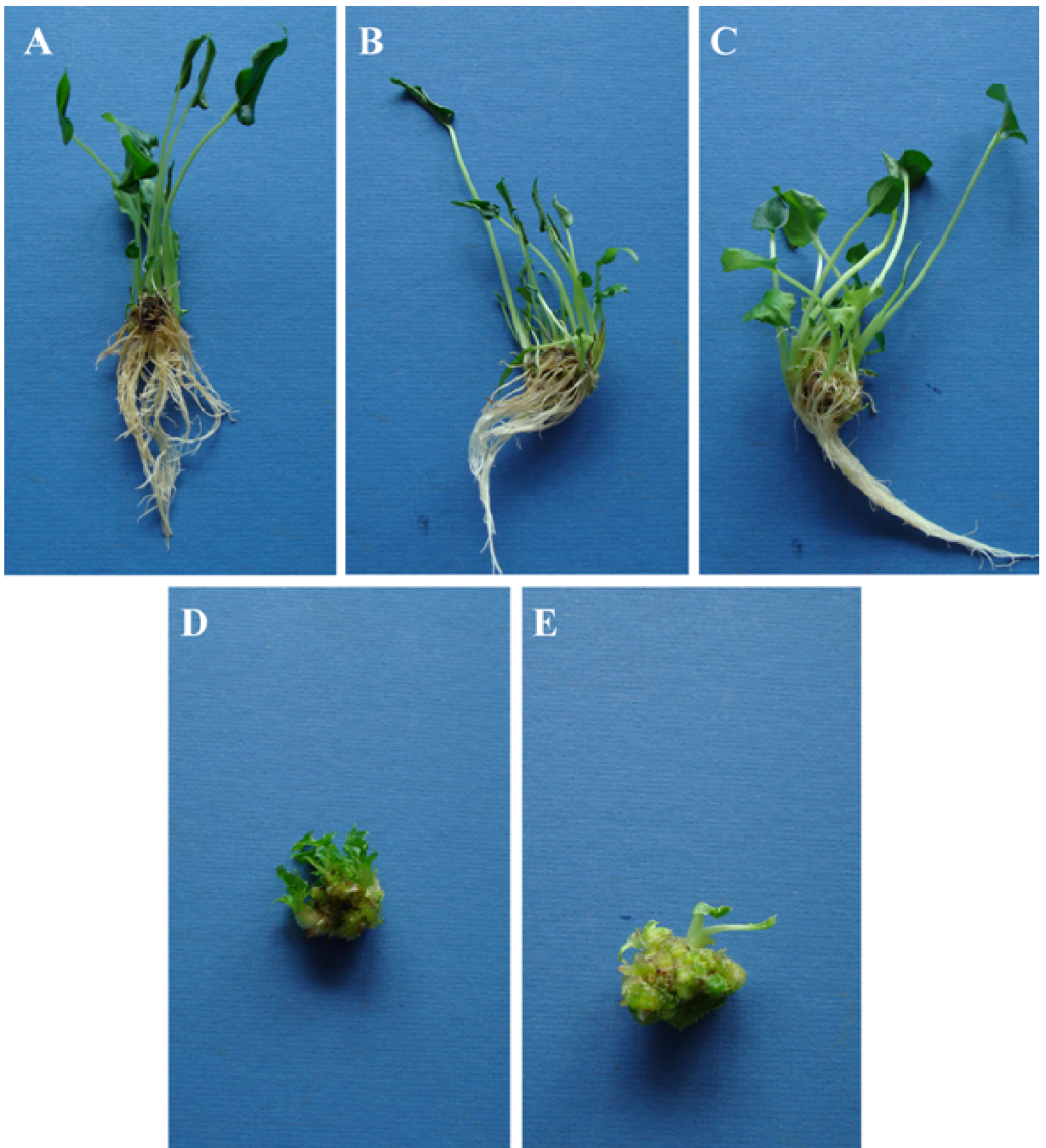


Figura 3.11. Brotes producidos *in vitro* de *X. wendlandii* luego de tres ciclos de multiplicación de 30 días en medio Murashige y Skoog (1962) con reguladores de crecimiento vegetal y 30 días de crecimiento en medio sin reguladores. Medio de cultivo fue adicionado con 30 g de azúcar, 2,2 g de Gelrite y uno de los siguientes reguladores: A) T0 sin regulador; B) T1 BA 3 mg/L; C) T2 BA 4,5 mg/L; D) T4 TDZ 0,5 mg/L; E) T5 TDZ 1 mg/L.

5. Discusión

En este estudio se logró el establecimiento y la multiplicación *in vitro* de cinco especies silvestres de *Xanthosoma* presentes en Costa Rica: *X. dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. mexicanum*, *X. undipes* y *X. wendlandii*. Su crecimiento y desarrollo fueron comparados con los de *X. robustum*, el tiquizque blanco. Se logró determinar una desinfección estándar para los explantes de campo y evaluar la respuesta de los mismos durante el establecimiento *in vitro*, así como micropropagar las vitroplantas por medio de la brotación axilar de cormos decapitados (con el meristemo apical y las hojas eliminadas) cultivados en un medio basal con BA o TDZ.

El protocolo de desinfección utilizado permite obtener un porcentaje de regenerantes aceptable para todas las especies en estudio (Cuadro 3.1), lo cual habilita el mantenimiento *in vitro* de la diversidad genética. Las dos especies con mayor grado de contaminación fueron *X. undipes* y *X. wendlandii* (41,2% y 25% de contaminación, respectivamente). El material vegetal de *X. undipes* fue recolectado en zonas muy húmedas, casi siempre de orillas de caminos en zonas altas de Costa Rica donde se le encuentra con frecuencia, mientras que *X. wendlandii* fue recolectada de un campo de cultivo de *Colocasia esculenta* var. *anticuorum* en San Ramón de Alajuela, durante la época lluviosa. Además, *X. wendlandii* tiene las pecíolos ligeramente separados en la base, por lo que quedan intersticios donde los contaminantes se pueden alojar. Como los explantes de ambos materiales se tomaron de plantas silvestres que crecían en lugares muy húmedos, es posible que tengan una mayor microflora acumulada entre las vainas de las hojas en comparación con las otras especies. Las condiciones microclimáticas, abundancia de luz y agua libre sobre la filósfera, la disponibilidad de nutrientes y la longevidad de las plantas son factores importantes que afectan la microflora que habita la filósfera (Andrew y Harris 2000). La adición de un paso de inmersión en una solución con fungicida y bactericida, previo a la siembra *in vitro*, podría reducir el problema de contaminación observado en *X. undipes* y *X. wendlandii*, como lo han resuelto en varias plantas perennes (Niedz y Bausher 2002, Skirvin *et al.* 1999, Kritzinger *et al.* 1998).

La oxidación de los explantes también se observó en porcentajes bajos, aunque no todos los explantes afectados murieron. Solo para *X. dealbatum* y *X. wendlandii* se encontró casi un quinto de los explantes afectados por la oxidación. Esto se podría controlar tratando de reducir el daño mecánico y el tiempo de manipulación durante la obtención de los explantes (Navarro 1988).

La metodología de introducción *in vitro* por medio de ápices caulinares permite el establecimiento de plantas libres de contaminantes externos, pero no asegura la limpieza de virus y otros patógenos sistémicos, por lo cual el material debería someterse pruebas de laboratorio y, en caso de ser necesario, a la siembra de meristemas con apenas uno o dos primordios foliares para la eliminación de virus (Saborío *et al.* 1998, Gómez *et al.* 1989, Monge *et al.* 1987). El estudio de las condiciones adecuadas para el cultivo de meristemas en las especies de *Xanthosoma* silvestres se debería abordar en un nuevo estudio, ya que solo existen informes para el tiquizque morado, *X. mafaffa* (= *X. violaceum*), y blanco, *X. robustum* (= *X. sagittifolium*) (Monge *et al.* 1987, Salazar *et al.* 1986, Hartman 1974).

El crecimiento en la etapa de introducción fue diferenciado entre especies. Este fue muy vigoroso en *X. mexicanum* y *X. wendlandii*. Estas diferencias en el crecimiento se presentaron posiblemente por una condición subóptima de la nutrición o de los reguladores de crecimiento provistos por el medio de cultivo para el resto de las especies. Los requerimientos de reguladores de crecimiento vegetal son distintos para la brotación *in vitro* de ápices de tiquizque morado y blanco (Monge *et al.* 1987), por lo que los requerimientos de otras especies del mismo género también podrían diferir. Este tipo de diferencias en respuestas de desarrollo y crecimiento han sido informadas en estudios de variedades de un mismo género, como en *Dieffenbachia* híbrida (Shen *et al.* 2008) y *Fragaria* X *ananassa* (Landi y Mezzetti 2006), pero también se han observado en cultivo de distintas especies de un mismo género, como entre especies de los géneros *Citrus* L. (Tavano *et al.* 2009), *Morus* L. (Benedetta *et al.* 2007) y *Lupinus* L. (Pniewski *et al.* 2002). No obstante, a pesar de las diferencias observadas, todas las especies de *Xanthosoma* estudiadas se pudieron establecer *in vitro*.

El establecimiento *in vitro* en las diferentes especies del género *Xanthosoma* que es factible utilizar una sola metodología de desinfección y un medio de cultivo común, indistintamente de la especie. Tener una metodología unificada para la introducción y mantenimiento de plantas *in vitro* facilita la conservación de distintos genotipos o accesiones, el cuarentenado, el indizado, la erradicación de enfermedades, la micropropagación, la caracterización, la evaluación, el monitoreo, el almacenamiento y la distribución de los materiales (Ashmore 1997). Estas actividades son propias de los bancos de germoplasma *in vitro* (Sánchez-Chiang y Jiménez 2009), por lo que la conservación *in vitro* del germoplasma de tiquizque es asequible a partir de las metodologías simplificadas.

En el caso del género *Xanthosoma*, se han recolectado recursos genéticos en diferentes regiones del Costa Rica (Chacón y Saborío, datos sin publicar), y existe un gran potencial para recolectar en otros países neotropicales, debido a la dispersión de este género en Mesoamérica y el Caribe (Grayum 2003). Una de las posibilidades más interesantes para la recolección de los recursos genéticos del tiquizque es la “colecta *in vitro*” (introducción *in vitro* directamente en el campo utilizando un método simplificado y anticontaminantes adecuados). La colecta *in vitro* de recursos genéticos de plantas silvestres o bajo algún grado de amenaza es especialmente conveniente en regiones tropicales, donde las dificultades para acceder a las zonas donde se encuentran las plantas en ocasiones hace imposible el monitoreo constante para obtener semillas sexuales y, es especialmente apta para la colecta de especies de fácil propagación vegetativa (Pence 2002). Realizar este tipo de recolectas en el género *Xanthosoma* se facilita debido a la factibilidad de que varias especies se adapten a un mismo medio de cultivo sin necesidad investigaciones para cada especie. Además, esta podría ser una opción en caso de efectuarse exploraciones de germoplasma en lugares muy alejados de un laboratorio o en países distintos a los de origen del grupo de exploración.

La micropropagación de los recursos genéticos, que han sido introducidos y conservados *in vitro*, es un paso esencial antes de su utilización. La multiplicación *in vitro* de las especies de *Xanthosoma* recolectadas en Costa Rica se ha logrado en este estudio con la utilización de la citoquinina BA o la difenilúrea TDZ, con actividad semejante a

citoquininas. En términos generales, la morfología de los brotes producidos por las distintas especies de *Xanthosoma* en presencia de BA es muy semejante a los desarrollados por los explantes en el medio sin reguladores (no se observa variación somaclonal). Informes anteriores demuestran que el BA por sí solo es capaz de inducir la brotación *in vitro* de cormos decapitados de tiquizque blanco y morado, o en combinaciones con dosis bajas de ácido indolacético (Torres *et al.* 1994, Gómez *et al.* 1989). Es importante destacar que las aráceas poseen más de una yema axilar, lo cual es particularmente obvio en *Xanthosoma*, que posee una yema principal con varias yemas laterales que se alinean sobre todo lo ancho del tallo, lo cual es conocido como yema gorgonoide (Ray 1988). Por otra parte, existe la presencia de varios nudos con entrenudos muy compactos en los cormos de *Xanthosoma*, aun en condiciones *in vitro*. De esta manera existe una gran cantidad de yemas disponibles en los explantes de cormo, las cuales posiblemente dan origen a los brotes observados en estos resultados. La generación de brotes *in vitro* directamente de meristemas preexistentes es una vía de multiplicación *in vitro* mucho más segura para producir plantas fiel al tipo, mediante la prevención de la aparición de variación somaclonal o su descarte temprano (Rani y Raina 2000), lo cual permite el mantenimiento de los cultivos *in vitro* a mediano y largo plazo con la correspondiente preservación de la fidelidad genética. Sharma y colaboradores (2007) han determinado que para la papa el mejor método de micropropagación sin introducir variaciones somaclonales o epigenéticas es la proliferación de brotes axilares de nudos sembrados *in vitro*. Igualmente, se ha logrado obtener una gran estabilidad genética en el cultivo *in vitro* del germoplasma de *Scutellaria baicalensis*, mantenido en *in vitro* por seis años a partir de la brotación axilar de nudos en intervalos de resiembra de dos meses (Alan *et al.* 2007).

La cantidad de brotes producidos en las distintas especies aumenta conforme aumenta la cantidad de BA, por lo que se forman grupos muy compactos de brotes difíciles de separar y con menor vigor. La concentración de BA de mayor producción de brotes y de adecuada morfología se encuentra en 4,5 mg/L, excepto para *X. robustum*, para el cual es mejor 3,0 mg/L. El efecto del uso de este regulador en repetidos ciclos de propagación puede causar su acumulación en los tejido y aumentar la formación de brotes, por lo que no se producen brotes individuales, sino la producción de una macolla. En el caso de *Zantedeschia*, se

encontró que la micropropagación con reguladores de crecimiento en dosis altas (6,0 ó 10,0 mg/L de BA, 2,0 ó 3,0 de TDZ), produce un efecto acumulativo que genera múltiples brotes (cormos más grades con más yemas) y que puede verse luego de la aclimatización, incluso durante el segundo ciclo en invernadero en la variedad susceptible “Florex Gold” como plantas con muchos más brotes y hojas (D’Arth *et al.* 2002). Aunque en *Xanthosoma* no se ha observado un efecto semejante en la aclimatización o luego de esta, si es importante notar que el crecimiento posterior a la fase de multiplicación es más lento en los brotes de explantes con mayor número de estos. Es importante de evaluar cuantitativamente esta relación entre el número de brotes producido, la materia fresca o seca generada y el crecimiento neto de los brotes en etapas posteriores en futuros estudios. Por otra parte, la formación de raíces no fue inhibida por el BA, excepto en *X. robustum*. Aunque la adición de citoquininas al medio de cultivo es ampliamente conocido como inhibitorio para la producción de raíces en muchas especies, el enraizamiento de otras no es afectado por la presencia estos reguladores de crecimiento (Van Staden *et al.* 2008). El caso particular de *X. robustum* muestra la diferencia de sensibilidad a los reguladores de crecimiento entre especies cercanas. Por otra parte, la presencia de raíces en las demás especies de *Xanthosoma* estudiadas hace que los brotes se puedan transferir a la fase de aclimatización sin la necesidad de desarrollar un paso previo para la inducción de raíces.

La presencia de TDZ indujo la formación de múltiples brotes de tamaño pequeño en todas las especies, con una respuesta inductora de brotación mayor que la de BA. No obstante, se observó la producción de callo y brotes apenas visibles que se necrosaron en *X. robustum* en el medio T5 (TDZ 1 mg/L). Esto evidencia que *X. robustum* tiene una mayor sensibilidad al TDZ, por lo que podría requerir dosis menores a las ensayadas para desarrollar una mayor cantidad de brotes. *X. robustum* demuestra así que es más sensible a los reguladores de crecimiento utilizados para la inducción de la brotación en este estudio, lo cual ha de considerarse en futuros estudios. En *Colocasia esculenta* se observó que se puede lograr tasas de multiplicación de hasta 25 veces cada cuatro semanas de subcultivo continuos en un medio con 1 mg/L de TDZ (Chand *et al.* 1999), semejante a lo obtenido en *X. mafaffa*. En otra aracea, *Zantedeschia albomaculata*, se obtuvieron 3,2 brotes por explante con esa misma concentración de TDZ en el primer subcultivo, pero dosis mayores

produjeron brotes muy pequeños y de morfología aberrante (Chang *et al.* 2003). Los efectos negativos observados de la dosis más alta de TDZ en *Xanthosoma* en este estudio son semejantes a los de este informe en *Zantedeschia*, lo cual confirma lo visto en otros cultivos con dosis superiores a la óptima (Huetteman y Preece 1993). No obstante, el uso de TDZ en dosis menores o con subcultivos intercalados sin reguladores podría generar en *Xanthosoma* resultados semejantes a los producidos con BA en este estudio o a los producidos en *Colocasia esculenta* con TDZ.

La producción de callo en presencia de TDZ se observó en casi el 100 % de los explantes de cuatro especies: *X. dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. robustum* y *X. undipes*. El callo observado en estos materiales fue de color verde, compacto, casi siempre en los bordes superiores de los explantes y rodeando a los brotes, y posiblemente da origen a algunos de ellos. La producción de callo en *Xanthosoma*, inducido en medio con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y seguido de subcultivo en un medio con TDZ, fue informada por Nyochembeng y Garton (1998), quienes indujeron la posterior organogénesis indirecta en un medio con Dicamba. En tiquizque morado (= *X. mafaffa*) Quynh y Uyen (1987) desarrollaron callogénesis organogénica mediante el uso de 2,4-D y BA en brotes obtenidos del cultivo de meristemas, mientras que Paul y Bari (2007) produjeron este mismo tipo de callo en tiquizque blanco (= *X. robustum*) a partir de yemas axilares cultivadas en medio con BA y ácido naftalenacético (ANA). Esta vía indirecta de regeneración produce gran cantidad de propágulos potencialmente aptos para desarrollarse en subcultivos posteriores en medios sin reguladores de crecimiento, aunque la estabilidad genética de dichos propágulos no se ha establecido aún. La vía de propagación callogénica (indirecta) es muy utilizada en otras plantas de la familia Araceae, principalmente en las ornamentales *Anthurium andreanum* (Gantait y Madal 2010), *Dieffenbachia* sp. (Shen *et al.* 2008) y *Alocasia micholitziana* (Thao *et al.* 2003). Varios esfuerzos se han realizado para obtener protocolos de la micropropagación indirecta de las especies cultivadas del tiquizque (Paul y Bari 2007, Nyochembeng y Garton 1998, Gómez *et al.* 1992). No obstante, la posibilidad de inducir variación somaclonal por medio de esta vía de propagación indirecta es mucho mayor que por la brotación axilar (Bauri *et al.* 2011, Rani y Raina 2000). En el caso de que dicha variación afecte caracteres productivos de detección

tardía (morfología, cantidad, peso y color de los cormelos) podría utilizarse como una herramienta en el fitomejoramiento (Jain 2001), pero a su vez podría ser muy negativo en la conservación de germoplasma y en la propagación masiva para la producción de semilla vegetativa.

La producción de brotes de tiquizque o sus parientes silvestres, de rápido crecimiento y con raíces, mediante la regeneración directa es muy útil para la producción de plántulas, ya sean para la investigación, la conservación *in vitro* o para la transferencia a los productores agrícolas.

6. Literatura Citada

- Alan, AR, Zeng, H, Assani, A, Shi, WL, McRae, HE, Murch, SJ y Saxena, PK. 2007. Assessment of genetic stability of the germplasm lines of medicinal plant *Scutellaria baicalensis* Georgi (Huang-qin) in long-term, *in vitro* maintained cultures. *Plant Cell Rep.* 26:1345–1355.
- Andrew, JH y Harris, RF. 2000. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annu. Rev. Phytopath.* 38:145-180.
- Ashmore, S. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetics Research Institute, Roma. 67 p.
- Asokan, ML, O'Hair, SK y Litz, RE. 1984. Rapid multiplication of *Xanthosoma caracu* by *in vitro* shoot tip culture. *HortScience* 19: 885-886.
- Bairu, MW, Aremu, AO y Van Staden, J. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regul.* 63:147–173.
- Benedetta, C, Germana, P y Germana, MA. 2007 . *In vitro* response of two Sicilian genotypes of *Morus* (L.) through axillary bud culture. *Caryologia* 60:178-181.
- Borges, M, Ceiro, W, Meneses, S, Aguilera, N, Vázquez, J, Infante Z y Fonseca, M. 2004. Regeneration and multiplication of *Dioscorea alata* germplasm maintained *in vitro*. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 76:87-90.

- Chand, H, Pearson, MN, Lovell, PH. 1999. Rapid vegetative multiplication in *Colocasia esculenta* (L.) Schott (taro). *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 55:223-226.
- Chang, HS, Chakrabarty, D, Hahn, EJ y Paek, KY. 2003. Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 39:129-134.
- D'Arth, SM, Simpson, SI, Seelye, JF y Jameson, PE. 2002. Bushiness and cytokinin sensitivity in micropropagated *Zantedeschia*. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 70:113-118.
- Deo, PC, Harding, RM, Taylor, M, Tyagi, AP y Becker, DK. 2009. Somatic embryogenesis, organogenesis and plant regeneration in taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta*). *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 99: 61–71.
- Esnard, J, Ferwerda, E, Rivera-Amador, E y Hepperly, PR. 1993. Induction of tetraploidy in the tanager cultivar var. "Inglesa" (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Plant Breed.* 111:335-338.
- Gantait, S y Mandal, N. 2010. Tissue culture of *Anthurium andreanum*: a significant review and future prospective. *Int. J. Bot.* 6:207-219.
- George, EF. 2008. Plant Tissue Culture Procedure - Background. *In*: George, EF, Hall, MA y De Klerk, G-J (eds.). *Plant Propagation by Tissue Culture, Vol. I - The Background.* 3^{ra} ed. Springer, Dordrecht. Pp. 1-28.
- Gómez, L, Valverde, R, Arias, O y Thorpe, T. 1992. Regeneración de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*) por embriogénesis somática. *Agron. Costarricense* 16:2192-2123.
- Gómez, L, Monge, M, Valverde, R, Arias, O y Thorpe, T. 1989. Micropropagación de tres aráceas comestibles libres de virus. *Turrialba* 39:155-161.
- Gopal, J, Chamail, A y Sarkar, D. 2002. Slow-growth *in vitro* conservation of potato germplasm at normal propagation temperature. *Potato Res.* 45:203-213.
- Grayum, MH. 2003. Araceae. *In* B Hammel, MH Grayum y E Zamora (eds.). *Manual de plantas de Costa Rica, Vol. III: gimnospermas y monocotiledóneas (Agavaceae – Musaceae).* Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 59–199.
- Han, B-H y Cho, H-R. 2003. *In vitro* propagation of *Zantedeschia* spp. through shoot tip culture. *Korean J. Plant Biotech.* 1:59-63.
- Hartman, RD. 1974. Dasheen mosaic virus and other phytopathogens eliminated from caladium, taro and cocoyams by culture of shoot tips. *Phytopathology* 64:237-240.

- Huetteman, CA y Preece, JE 1993. TDZ: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 33:105-119.
- Jain, SM. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica* 118:153-166.
- Jarret, RL y Gawel, N. 1991. Chemical and environmental growth regulation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) *in vitro*. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 25:153-159.
- Kritzinger, EM, Vuuren, RJ, Woodward, B, Rong, IH, Spreeth, MH y Slabbert, MM. 1998. Elimination of external and internal contaminants on rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 52:61-65.
- Landi, L y Mezzetti, B. 2006. TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria*. *Plant Cell Rep.* 25:281-288.
- Lizarraga, R, Panta, A, Espinoza, N y Dodds, JH. 1992. Tissue culture of *Ipomoea batatas*: micropropagation and maintenance. CIP Research Guide 32, International Potato Center, Lima. 18 p.
- Malaurie, B, Trouslot, M-F, Bertaud, J, Bousalem, M, Pinel, A y Dubern, J. 1998. Medium-term and long-term *in vitro* conservation and safe international exchange of yam (*Dioscorea* spp.) germplasm. *Electron. J. Biotechnol.* 1:26-27.
- Monge, M, Arias, O y Ramírez, P. 1987. Obtención de plantas de tiquizque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*), de tiquizque morado (*X. violaceum*) y de ñame (*Colocasia esculenta*) libres de virus por medio de cultivo *in vitro* de ápices. *Agron. Costarricense* 11:71-79.
- Murashige, T y Skoog, M. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physio. Plant.* 15:473-497.
- Neumann, K-H, Kumar, A y Imani, J. 2009. *Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology: Principles and Practice*. Springer, Heidelberg. 333p.
- Niedz, RP y Bausher, MG. 2002. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse- and field-grown trees. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 38:468-471.
- Nyochembeng, S y Garton, S. 1998. Plant regeneration from cocoyam callus derived from shoot tips and petioles. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 53:127-134.
- Paul, KK y Bari, MA. 2007. Protocol establishment for micro propagation and *in vitro* callus regeneration of Maulavi Kachu (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) from cormel axillary meristema. *J. Plant Sci.* 2:398-406.

- Pence, VA, 2002. *In vitro* collecting—a tool for wild or endangered species conservation. *In: Pence, VA, Sandoval, JA, Villalobos A., VM y Engelmann, F (eds). 2002. In vitro collecting techniques for germplasm conservation. IPGRI Technical Bulletin No. 7. International Plant Genetic Resources Institute, Roma. Pp 26-29.*
- Perneel, M, Tambong, JT, Adiobo, A, Floren, C, Saborio, F, Lévesque, A, y Höfte, M. 2006. Intraspecific variability of *Pythium myriotylum* isolated from cocoyam and other host crops. *Myc. Res.* 110: 583-593.
- Pniewski, T, Kapusta, J y Legocki, AB. 2002. *In vitro* micropropagation of four lupin species. *Acta Physiol. Plantar.* 24:417-424.
- Quynh, N-T y Uyen, N-V. 1987. Aroids propagation by tissue culture: I. shoot tip culture and propagation of *Xanthosoma violaceum*. *HortScience* 22:671-672.
- Rani, V y Raina, SN. 2000. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plant: a critical reappraisal. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 36:319-330.
- Ray, T.S. 1988. Survey of shoot organization in the Araceae. *Am. J. Bot.* 75:56-84.
- Saborío, F. 2007. Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *In: Ochatt, S y Jain, SM. 2007. Breeding of neglected and under-utilized crops, spices and herbs. Science Pub., Nueva Jersey. Pp. 171-187.*
- Saborío, F, Torres, S y Gómez, L. 1998. Development of a clean-planting-material production system on tropical root and tuber crops, using *in vitro* propagated plants. *Acta Hortic.* 461:495-501.
- Salazar, S, Fernández, R y Jarret, R. 1986. Virus-free plants obtained by thermotherapy and meristem culture of white (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) and purple (*X. violaceum* Schott) cocoyams. *In: VIIth Symp. Intl. Soc. Tropical Root Crops, Gosier, Guadalupe. Pp. 161-176.*
- Sánchez-Chiang, N y Jiménez, VM. 2010. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. *Agron. Mesoam.* 21:193-205.
- Sarasan, W, Cripps, R, Ramsay, MM, Atherton, C, McMichen, M, Prendergast, G y Rowntree, JK. 2006. Conservation *in vitro* of threatened plants: progress in the past decade. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 42:206-214.
- Sharma, SK, Bryan, GJ, WinWeld, MO, Millam, S. 2007. Stability of potato (*Solanum tuberosum* L.) plants regenerated via somatic embryos, axillary bud proliferated shoots, microtubers and true potato seeds: a comparative phenotypic, cytogenetic and molecular assessment. *Planta* 226:1449–1458.

- Shen, X, Kane, ME y Chen, J. 2008. Effects of genotype, explant source, and plant growth regulators on indirect shoot organogenesis in *Dieffenbachia* cultivars. *In Vitro Cell . Dev. Biol. Plant* 44:282-288.
- Skirvin, RM, Motoike, S, Norton, MA, Ozgur M, Al-Juboory, K y McMeans, OM. 1999. Establishment of contaminant-free perennial plants *in vitro*. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 35:278-280.
- Strauss, MS y Arditti, J. 1980. Plantlet regeneration from shoot tip cultures of *Xanthosoma caracu*. *Ann. Bot.* 45:209-212.
- Tavano, ECR, Stipp, LCL, Muniz, FR, Mourao, FAA y Mendes, BMJ, 2009. *In vitro* organogenesis of *Citrus volkameriana* and *Citrus aurantium*. *Biol. Plantar.* 53:395-399.
- Thao, NTP, Ozaki Y y Okubo, H. 2003. Callus induction and plantlet regeneration in ornamental *Alocasia micholitziana*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 73:285-289.
- Torres, S, Gómez, L, Valverde, R, Arias, O y Torpe, T. 1994. Micropropagation and field performance of virus free white cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) in Costa Rica. *Caribbean Food Crop Soc. 30th An. Meeting, St. Thomas, July 31-Agost 5.* Pp. 137-145.
- Van Staden, J, Zazimalova E y George, EF. 2008. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. *In: George, EF, Hall, MA y De Klerk, G-J (eds.). Plant Propagation by Tissue Culture, Vol. I - The Background. 3^{ra} ed. Springer, Dordrecht.* Pp. 205-226.
- Vílchez, J, Rivas, Y, Albany, N, Molina, M y Martínez, L. 2009. Efecto de la N⁶ bencilaminopurina sobre la multiplicación *in vitro* de ocumo criollo (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 26:212-222.
- Werbrouk, SPO, Redig, P, van Onckelen, HA y Debergh, PC. 1996. Gibberellins play a role in the interaction between imidazole fungicides and cytokinins in Araceae. *J. Plant Growth Regul.* 15:87-93.
- Zar, JH. 2010. *Biostatistical Analysis.* 5^{ta} ed. Pearson, Upper Saddle Rv., NJ. Pp. 508-510.
- Zettler, FW y Hartman, RD. 1987. Dasheen Mosaic Virus as a Pathogen of Cultivated Aroids and Control of the Virus by Tissue Culture. *Plant Dis.* 71:958-960.

Capítulo IV. Discusión General

Las principales limitantes para el establecimiento de programas de mejoramiento genético de tiquizque están relacionados con el desconocimiento y la confusión sobre el estatus taxonómico de los cultivares, la carencia de información sobre la diversidad de los recursos genéticos, así como por la falta de la exploración de áreas geográficas con un alto potencial como centros de diversidad.

La confusión que se ha presentado en el estudio de los recursos genéticos y de la taxonomía del género *Xanthosoma* Schott se debe, en gran medida, a una mala interpretación inicial de las láminas de Schott de *X. sagittifolium* como la principal especie comestible de este género y, a las descripciones confusas y poco esclarecedoras que los botánicos han publicado desde Britton y Wilson (1924). Esta interpretación, que ha sido la base de las posteriores publicaciones, hizo mayor énfasis en los aspectos morfológicos del vástago con respecto a las características florales (O'Hair y Asokan 1986, León 1968).

La lámina original de Schott del vástago (Figura 4.1), dibujada a partir de una planta en el Jardín Botánico de Viena a mediados del siglo XIX, muestra una planta de crecimiento muy elongado que refleja que la planta modelo se encontraba etiolada, según las condiciones de baja luminosidad conocidas de dicho jardín botánico. Además muestra la presencia de tallos y raíces aéreas, características que no están presentes en las especies cultivadas en la actualidad. A pesar de la existencia de láminas de Schott de las inflorescencias de múltiples especies (Figura 2.5) que pudieron evitar la confusión, estas no se han utilizado para hacer las determinaciones taxonómicas de los cultivares, posiblemente debido a la baja frecuencia en que a estos se les encuentra florecidos.

Esta confusión se evidencia muy bien en el hecho de que existan siete sinónimos nomenclaturales (nombres científicos no válidos, que fueron asignados a una especie conocida por descripción independiente o incorrecta de algunos especímenes) para *X. sagittifolium* (MBG 2012), por lo que hay distintas formas de denominar a la misma

especie. Según Nicolson (1975) existen varios documentos históricos que fueron utilizados a inicios y mediados del siglo XX para hacer estas determinaciones taxonómicas sinónimas (León 1968, Standley 1937), y sus conclusiones se mantienen hasta inicios del siglo XXI (Quero-García *et al.* 2010, Lebot 2009). Algunos estudios se han enfocado en tratar de resolver el problema taxonómico, pero su extensión ha sido reducida, debido a la falta de diversidad genética de los materiales estudiados (Okeke 1992, Morton 1972). El trabajo realizado por el Gonçalves (2011), representa el avance más reciente para tratar de esclarecer la taxonomía del género, aunque algunas de sus conclusiones no coinciden con las realizadas en este estudio.

Este problema taxonómico ha impactado negativamente los esfuerzos de mejoramiento genético del tiquizque, ya que no se puede delimitar grupos de cultivares dentro de especies biológicas, definidos estas como una o más poblaciones que comparten una serie de características morfológicas y la capacidad reproductiva por entrecruzamiento. Si no se conoce a qué especie pertenece un determinado cultivar o su identificación es equivocada, su utilización en el mejoramiento genético se ve limitada. Por ejemplo, se pueden confundir problemas de incompatibilidad con errores en el proceso de polinización y, debido a lo largo de los ciclos de cultivo de estas especies, la solución de estos problemas puede llevar extensos períodos de tiempo, que pueden dar al traste con los esfuerzos de mejoramiento.. Por otra parte, este desconocimiento de cuáles son las especies cultivadas distorsiona los esfuerzos de prospección de los recursos genéticos, ya que no se pueden relacionar correctamente con las especies silvestres, ni determinar las zonas de diversidad del cultivo, mucho menos el centro de origen, donde la diversidad genética es mayor y de gran utilidad para el mejoramiento genético (Hausman *et al.* 2004, Maxted *et al.* 1997). Algunos ejemplos de estos problemas se reflejan en los esfuerzos de mejoramiento genético reportados por Onokpise (1992), Mbouobda *et al.* (2007), Pacumbaba *et al.* (1992), Alamu y McDavid (1985) y Jordan-Morelo (1979).

El problema taxonómico y de la diversidad genética del cultivo solo se puede afrontar mediante un estudio comparativo de distintos tipos de caracteres entre múltiples accesiones de distintos orígenes geográficos (Amalraj y Balasundaram 2006, Wilkin *et al.* 2005). Con

el interés de resolver estos problemas, se tomaron las accesiones presentes en el banco de germoplasma de Laboratorio de Biotecnología de Plantas que mantiene accesiones de diversos orígenes y además se enriqueció con una recolecta y estudio de diversos materiales de tiquizque, tanto silvestres como cultivados, en el territorio costarricense, por encontrarse dentro del área de diversidad genética del género *Xanthosoma* Schott (Grayum 2003, Vavilov 1926). Las diversas accesiones fueron cultivadas en el campo y estudiadas a nivel morfológico, tanto en sus características florales como en las vegetativas. Las determinaciones taxonómicas se pudieron realizar, con más exactitud, debido a la floración natural encontrada en el 41,46% de las accesiones sembradas en campo, lo cual no es frecuente (Onokpise 1992, Jordan-Morelo 1979, Alamu y McDavid 1978). El resto de las accesiones que no florecieron se determinaron por comparación de las características vegetativas con las plantas que sí florecieron y por asociación mediante un análisis multivariado. Los resultados permitieron la separación de las formas cultivadas en cinco especies. *X. atrovirens*, *X. caracu*, *X. mafaffa*, *X. robustum*, y *X. sagittifolium*; así como la confirmación de la presencia de cuatro especies silvestres en territorio costarricense: *X. dealbatum*, *X. mexicanum*, *X. undipes* y *X. wendlandii*.

El binomio *Xanthosoma sagittifolium* Schott se ha determinado en este estudio como el nombre de un grupo particular de cultivares, los cuales se caracterizan por poseer hojas muy oscuras con venas claras en el lado adaxial, pecíolos largos, un tallo aéreo corto y coloración amarillenta en parte interna de los cormos principales y cormelos laterales, flores con estaminodios estériles separados y los fértiles poseen cinco estambres, una característica muy particular de este género y ya descrita en las láminas de Schott. Estas características son distintas a las encontradas en los cultivares blancos, generalmente llamados *X. sagittifolium*, o las de los cultivares morados denominados comúnmente como *X. violaceum* (Quero-García *et al.* 2010, Lebot 2009, O'Hair y Asokan 1986). El origen geográfico del *X. sagittifolium* no es del todo claro, pero en este estudio las accesiones (Ta-03 y Ta-04) que se determinaron taxonómicamente como pertenecientes a esta especie provenían del banco de germoplasma de Camerún.



Figura 4.1. Lámina de Schott lectotipo del vástago de *Xanthosoma sagittifolium*.

Los cultivares identificados por los productores agrícolas como tiquizque blanco o morado fueron determinados como *X. robustum* Schott y *X. mafaffa* Schott, respectivamente, los cuales se distinguen entre sí por la presencia generalizada de antocianinas en distintas partes de la planta en *X. mafaffa*, así como otras características diagnósticas de la inflorescencia, por lo que se concluye que las formas cultivadas en Costa Rica no se pueden clasificar como *X. sagittifolium*. La especie *X. robustum* es originaria del sur de México y Guatemala, caracterizada por tener plantas muy vigorosas que desarrollan tallos rectos, cormos y cormelos con el tejido interno blanco, hojas y pecíolos con muy pocas de antocianinas, inflorescencias con espata con pocas antocianinas, sección masculina blanca, sección estéril muy constreñida y con los estaminodios estériles dimórficos. También se clasificaron algunas accesiones internacionales como *X. robustum*

provinieron de Camerún (Tb-08 y Tb-22), México (Tb-19), Islas Mauricio (Tb-21a) y Nicaragua (Tb-23 y Tb-24). Las plantas cultivadas de la especie *X. mafaffa* se caracteriza por poseer abundantes antocianinas en cormos y cormelos, en los bordes y costilla de los peciolo, en los bordes de las hojas y sus venas ventrales, así como por inflorescencias con colores rosados en la base de la espata y las secciones estéril y masculina del espádice, y la sección estéril es poco constreñida y posee estaminodios con poco dimorfismo. De esta especie se encontraron poblaciones silvestres en Costa Rica, las cuales compartían la mayoría de las características morfológicas pero no producían cormelos. Como pertenecientes a esta especie se clasificaron varias accesiones originarias de Camerún (Tm-17), Islas Mauricio (Tm-18) y Nicaragua (Tm-19, Tm-21, Tm-22 y Tm-23).

Estos resultados demuestran que en los países incluidos provenientes de América del Norte, América Central, el Caribe, y África las principales especies cultivadas con cormelos blancos y cormelos morado son *X. robustum* y *X. mafaffa*, respectivamente. Este resultado unifica, por primera vez, la identificación de especies cultivadas de tiquizque alrededor del mundo, y representa un resultado importante para el establecimiento de futuros programas de mejoramiento genético.

Se determinó como *X. caracu* K. Koch & C.D. Bouché un grupo de cultivares con hojas amarillentas y cormelos color crema, inflorescencias completamente blancas y con los estaminodios estériles muy poco dimórficos, posiblemente originaria de Puerto Rico. Las accesiones Ta-01 y Tb-06 se clasificaron en esta especie, la primera procedente de Haití y la segunda de Cuba. Además, se encontró plantas con hojas y peciolo muy oscuros (negruzco), presencia abundante de ceras y color amarillo intenso en los cormelos, las cuales se clasificaron como *X. atrovirens* K. Koch, originario de Venezuela. Esta especie se encontró mezclada con el Tb-21, recibida de las Islas Mauricio, y se le designó como Tb-21b.

De esta manera quedan esclarecidas las relaciones taxonómicas dentro del tiquizque cultivado en Costa Rica y de los materiales procedentes de bancos de germoplasma internacionales analizados en este estudio, con cinco especies distintas con diferente origen

geográfico en la región Mesoamericana y el Caribe. El tiquizque como cultivo es definitivamente multiespecífico, y la designación de todas las formas cultivadas a una sola especie, como se había planteado (O'Hair y Asokan 1986, León 1968), es una conjetura que no se sustenta frente a los resultados de este estudio.

La existencia en territorio costarricense de formas silvestres de *X. mafaffa* (plantas reconocibles por sus características morfológicas del vástago y de las inflorescencias como pertenecientes a esta especie, pero que no producen cormelos), la especie a la que pertenecen los cultivares morados, y el cultivo de formas productoras de cormelos por los indígenas costarricenses hasta el día de hoy (Zaldivar *et al.* 2002 y observaciones de campo de este estudio), hacen suponer que el país es parte de la región de diversidad del tiquizque morada y, posiblemente, es parte del centro de origen. No obstante, se requieren estudios en diversos países de la región para explorar la diversidad silvestre y cultivada. Además, los resultados deben confirmarse con otro tipo de estudios, como los quimiotaxonómicos, los citológicos y los moleculares. El estudio de estos otros tipos de datos ha permitido esclarecer si algunos cultivos fueron domesticados una sola ocasión (cultivos monofiléticos) o en varias ocasiones (polifiléticos). El origen de alguno de los cultivos sobre los cuales se fundó la agricultura en Medio Oriente, en la llamada la "Media Luna Fértil", se determinó como monofilético, con base en la diversidad genética a nivel cromosómico (lentejas *Lens culinaris* subsp. *orientalis*, guisantes *Pisum sativum* subsp. *syriacum* y trigos duros primitivos *Triticum* tetraploides), de marcadores moleculares (*P. sativum* y *Triticum* tetraploides), o por caracteres morfológicos compartidos entre poblaciones silvestres y los cultivares (garbanzos *Cicer arietinum* subsp. *reticulatum*) (Zohary 1999). En América, se ha determinado a partir de estudios moleculares que el origen del maíz se dio a partir de la domesticación de un solo material o población silvestre de teocintle en el sur de México (*Zea mays* subsp. *parviglumis*) (Doebley 1990, Buckley y Stevens 2006), igual que en el caso del camote (*Ipomoea batata*), que probablemente se originó por alopolipliodización de *I. trifida* con *I. leucantha* o *I. tiliacea*, especies cohabitantes en la región centroamericana (Srisuwan *et al.* 2006, Haung y Sun 2000, Jarret *et al.* 1992). Por otra parte, para el frijol común (*Phaseolus vulgaris*), los eventos de domesticación fueron múltiples en Mesoamérica y la región Andina (Chacón *et al.* 2005,

Gepts 1999, 1990), mientras que la papa (*Solanum tuberosum*) continúa siendo uno de los cultivos más controversiales, por poseer un origen híbrido (Rodríguez *et al.* 2010), cuya domesticación posiblemente se dio por medio de eventos consecutivos que introdujeron una gran diversidad al cultivo (Jacobs y van den Berg 2008). Para estos cultivos la información ha sido ampliamente recabada, lo cual es contrastante con el tiquizque, para el cual no hay mayor información sobre su proceso de domesticación. En sentido laxo, el tiquizque morado es un cultivo de origen monofilético, pero se requiere un estudio exhaustivo para relacionar la diversidad genética cultivada con las formas presentes en los pueblos indígenas y las poblaciones silvestres de la región.

Uno de los aspectos más interesantes a estudiar en torno a la domesticación de *X. mafaffa* es la presencia de cormelos en las formas cultivadas. Desde un punto de vista cladístico, la presencia de cormelos podría suponerse como una simplesiomorfía (forma original compartida por un grupo monofilético) en el contexto previo del estado taxonómico del cultivo. No obstante, la existencia de variantes de *X. mafaffa* con estolones, estructuras rizomatosas y cormelos y las determinaciones taxonómicas de algunas formas cultivadas como especies distintas a *X. mafaffa*, son una fuerte evidencia para suponer que la presencia de cormelos es una apomorfía (estado derivado), mientras que los estolones son plesiomórficos (estado previo). Así, el origen de los cormelos sería polifilético y la característica como tal una homoplasia (caracteres semejantes por convergencia) seleccionada múltiples veces, posiblemente, por las poblaciones indígenas de América. La existencia de una estructura comestible subterránea en una planta de fácil propagación clonal en campo hace factible su proceso de domesticación (Lebot *et al.* 2005). Sin embargo, la información requerida para asegurar esta hipótesis es inexistente para las otras especies del género *Xanthosoma*, ya que generalmente los taxónomos que han recolectado las formas silvestres no ponen mayor atención a la parte subterránea de la planta, por lo que queda todo un área de investigación por desarrollar. Por otra parte, existen diferentes formas de los cormelos entre cultivares de tiquizque morado y de otros tipos, por lo que también hay un proceso de derivación en estos al cual no se le ha puesto atención y podría añadir información al esclarecimiento del proceso de domesticación. El análisis cladístico ha mostrado ser útil en otros cultivos complejos, como en el caso del aguacate, género

Persea, en el cual se han logrado relacionar mejor los subgéneros, especies y subespecies, así como la evolución de los caracteres y su importancia en su domesticación y mejoramiento (Campos-Rojas *et al.* 2007). Este enfoque podría retomarse en estudios futuros del género *Xanthosoma* Schott para mejorar la comprensión del proceso de domesticación del cultivo.

En conjunto, la información taxonómica y de la diversidad genética tiene un gran impacto sobre los futuros programas de mejoramiento, al poder resolverse elementos sobre diversidad genética intra e interespecífica, aporte de distintas especies en caracteres agronómicos importantes, como productividad y resistencia a enfermedades, interfertilidad de las especies, así como en la determinación de las áreas de dispersión natural y cultivada de cada especie y, la prospección recursos genéticos en estas regiones con mejores conocimientos sobre los mismos.

Otra área de trabajo en este estudio fue la micropropagación de varias especies del género *Xanthosoma* Schott, con el objeto de establecer un opción para la conservación y el fácil acceso de los diversos materiales del banco de germoplasma. Los principales logros fueron el establecimiento *in vitro* de *X. dealbatum*, *X. mafaffa*, *X. mexicanum*, *X. robustum*, *X. undipes* y *X. wendlandii* mediante una metodología muy simple, y la multiplicación mediante la brotación a partir de explantes de cormo en medio de cultivo suplementado con citoquinina.

Se encontraron dosis de BA que dieron buenos resultados en la multiplicación. El TDZ, por su parte, produjo resultados promisorios, pero hacen falta más estudios para determinar las dosis y exposición óptima para cada uno de estos materiales. El efecto de las citoquininas como inductoras de brotación en cultivos es ampliamente conocida (Gaspar *et al.* 1996, van Staden *et al.* 2009). Parte del efecto se debe a la regulación positiva del ciclo celular, lo cual afecta los meristemas preexistentes, como yemas laterales en reposo, pero también induce la formación de nuevas estructuras meristemáticas (John 2007). No obstante, el efecto sobre el ciclo celular no es el único elemento en la activación de yemas en reposo. Otro proceso regulado por las citoquininas, que podría tener un rol importante,

es la síntesis *de novo* de sacarosa invertasa, la cual afecta la relación de tejidos fuente-sumidero al inducir el metabolismo de sumidero en tejidos en desarrollo, particularmente en las yemas que reinician su crecimiento (Roitsch y Ehneß 2000). El efecto es particularmente intenso en los tejidos tratados con TDZ. Un nuevo modelo explica que las citoquininas, en adición activar el ciclo celular en los brotes laterales y yemas en reposo, promueven la síntesis y exportación de auxinas desde el brote y la regulación negativa de los genes que mantienen en reposo el meristemo (Müller y Leyser 2011).

En el caso de las citoquininas naturales y sintéticas no hay discusión sobre si participan o no en los mecanismos de control bioquímico de la brotación, y más bien se estudia las diferentes reacciones entre genotipos o especies de plantas a la exposición a estas sustancias. Sin embargo, con el TDZ y otros reguladores del tipo fenil-ureas, el modo de acción es un tema aun sin esclarecer del todo. Existe abundante evidencia sobre la inducción por parte del TDZ de reacciones semejantes a las citoquininas derivadas de purinas, además otras semejantes a las inducidas por auxinas o a la presencia de ambos reguladores (Murthy *et al.* 1998). El efecto sobre la brotación en muchos casos es más intenso al de otras citoquininas, lo cual podría deberse, en parte, a una mayor estabilidad de la molécula en los tejidos vegetales (Mok y Mok 1985), ya que se ha demostrado que el TDZ es insensible a la citoquinina oxidasa (Mok *et al.* 1987). Su efecto también se puede ver aumentado ya que este regulador es capaz de inactivar esta enzima, lo cual podría modificar la cantidad de citoquininas endógenas (Hare *et al.* 1994). Además, se ha demostrado efecto directo por parte del TDZ, o de topolinas derivadas de este, sobre receptores de citoquininas, debido a la similitud conformacional de estas moléculas con la zeatina o la bencilaminopurina (Mok *et al.* 2005). Se ha observado que las respuestas morfológicas obtenidas son completamente distintas entre el TDZ y BA en el mismo explante (Victor *et al.* 1999). Por otra parte, algunas reacciones observadas en los explantes tratados con TDZ se atribuyen a la inducción de la producción y transporte de auxinas e indolaminas (Hutchinson *et al.* 1996, Murch y Saxena 2001, Jones *et al.* 2007) y el etileno (Hutchinson *et al.* 1997). En resumen, es posible que varias de estas vías de acción descritas estén activándose, dependiendo del estado fisiológico de los tejidos tratados.

Estos resultados son alentadores para mejorar el establecimiento *in vitro* y micropropagación del germoplasma de *Xanthosoma*, así como de cultivares del tiquizque morado, *X. mafaffa*, y del blanco, *X. robustum*. Estos son cultivos de importancia económica para Costa Rica como alimentos y como productos de exportación (Rodríguez-Montero 1994), así como para muchas regiones empobrecidas y con dificultades para el acceso a alimentos que requieren mayores niveles tecnológicos (Lebot 2009). En el caso de la yuca, *Manihot esculenta*, otro cultivo del grupo de raíces y tubérculos, se ha logrado establecer proyectos que logran transferir la tecnología de micropropagación a los productores, lo cual mejora sus posibilidades para que mantengan sus propios materiales genéticos y los propaguen acorde a sus necesidades (Thro *et al.* 1999). De igual manera, la micropropagación y producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) ha producido un impacto positivo en la producción de este cultivo, permitiendo el acceso a semilla vegetativa de alta calidad a los agricultores, la propagación rápida de nuevas variedades y la disminución de los costos de producción (Ezeta 2001).

Para que este cultivo se mantenga como una opción para los agricultores se debe lograr enfrentar varios retos, como el control de enfermedades, mejorar la productividad y lograr una mayor adaptación a distintos ambientes y mercados en las condiciones actuales de cambio climático. El cultivo del tiquizque enfrenta todos estos retos y la necesidad de realizar mejoramiento genético es imperativa. Sin embargo, la falta de conocimiento del germoplasma, así como el desconocimiento sobre cómo manejarlo y conservarlo ha sido parte de las dificultades que se han afrontado. El cultivo *in vitro* es una herramienta para la conservación de germoplasma a corto, mediano y largo plazo, que potencializa el uso de los recursos genéticos al mantenerlos en condiciones controladas, aislados de posibles infecciones con patógenos y otros efectos ambientales y, con costos menores que su mantenimiento *ex situ* en campo (Sánchez-Chiang y Jiménez 2010). La existencia de protocolos simples y confiables es imprescindible para lograr la introducción y conservación *in vitro* de plantas (Sarasan *et al.* 2006). Los resultados presentados en este estudio permiten mejorar la conservación y el manejo de los recursos genéticos del tiquizque, lo cual ayudará a evitar su erosión genética y a mejorar su utilización.

Literatura citada

- Alamu, S, McDavid, CR. 1985. Genetic variability in tannia (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). Trop. Agric. (Trinidad) 62:30-32.
- Amalraj, VA y Balasundaram, N. 2006. On the taxonomy of the members of 'Saccharum complex'. Genet. Genet. Res. Crop Evol. 53:35-41.
- Britton, NL y Wilson, P. Botany of Porto Rico and the Virgins Islands, Vol. V. Academia de Ciencias de Nueva York, Nueva York. 626 p.
- Buckler, ES y Stevens, NM. 2006. Maize domestication. *In*: Motley, TJ, Cross, HB and Zerega, NJC (eds.). Darwin's Harvest: New Approaches to Origins, Evolution, and Conservation of Crop Plants. Columbia U. Press, NY. Pp. 67-90.
- Campos-Rojas, E, Terrazas, T y López-Mata, L. 2007. *Persea* (avocado) phylogenetic analysis based on morphological characters: hypothesis of species relationships. Genet. Res. Crop Evol. 54:249-258.
- Chacón, MI, Pickersgill, SB y Debouck, DG. 2005. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. Theor. Appl. Genet. 110:432-444.
- Doebley, J. 1990. Molecular evidence and the evolution of maize. Econ. Bot. 44(Suppl.):6-27.
- Ezeta, FN. 2001. Producción de semilla de papa en Latinoamérica. Rev. Latinoam. Papa 12:1-14.
- Gaspar, T, Kevers, C, Penel, C, Greppin, H, Reid, DM y Thorpe, TA. 1996. Plant hormones and plant growth regulation in plant tissue culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 32:272-289.
- Gepts, P. 1999. What can molecular markers tell us about the process of domestication in common bean? *In*: Damania, AB, Valkoun, J, Willcox, G y CO Qualset (eds.). The Origins of Agriculture and Crop Domestication. ICARDA, Aleppo, Syria. Pp. 198-209.
- Gepts, P. 1990. Biochemical evidence bearing on the domestication of *Phaseolus* (Fabaceae) beans. Econ. Bot. 44(Suppl.): 28-38.
- Grayum, MH. 2003. Araceae. *In* B Hammel, MH Grayum y E Zamora (eds.). Manual de plantas de Costa Rica, Vol. III: gimnospermas y monocotiledóneas (Agavaceae – Musaceae). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 59-199.

- Hare, PD, Staden, J y van Staden, J. 1994. Inhibitory effect of TDZ on the activity of cytokinin oxidase isolated from soybean callus. *Plant Cell. Physiol.* 35:1121-1125.
- Huang, J-H y Sun, M. 2000. Genetic diversity and relationship of sweet potato and its wild relatives in *Ipomoea* series Batatas (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theor. Appl. Genet.* 100:1050–1060.
- Hausmann, BIG, Parzies, HK, Presterl, T, Sušić, Z y Miedaner, T. 2004. Plant genetic resources in crop improvement.
- Hutchinson, MJ, Murch, SJ y Saxena, PK. 1996. Morphoregulatory role of thidiazuron: evidence of the involvement of endogenous auxin in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium X hortorum* Bailey). *J. Plant Physiol.* 149:573-579.
- Hutchinson, MJ, Murr, D, Krishnaraj, S, Senaratna, T y Saxena, PK. 1997. Does ethylene play a role in thidiazuron-regulated somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium X hortorum* Bailey) hypocotyls cultures? *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 33:136-141.
- Jacobs, MMJ y van den Berg, RG. 2008. Molecular Studies on the Origin of the Cultivated Potato: a Review. *Acta Hortic.* 799:105-110.
- Jarret, RL, Gawel, N y Whittemore, A. 1992. Phylogenetic Relationships of the Sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 117:633-637.
- John, PCL. 2007. Hormonal regulation of cell cycle progression and its role in development. *In: Inzé, D (ed.). The cell cycle control and plant development. Ann. Plant Rev.* 32:311-328.
- Jones, MPA, Cao, J, O'Brien, R, Murch, SJ, Saxena, PK. 2007. The mode of action of thidiazuron: auxin, indoleamines, and ion channels in the regeneration of *Echinacea purpurea* L. *Plant Cell Rep.* 26:1481-1490.
- Jordán-Molero, FL. 1979. Preliminary work with tanager (*Xanthosoma* spp.) hybridization in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. Puerto Rico.* 63:469-473.
- Lebot, V. 2009. Tropical root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids. *Crop Production Science in Horticulture Series N° 17.* CABI, Wallington, UK. Pp. 285-300.
- Lebot, V, Ivancic, A y Abraham, K. 2005. The geographical distribution of allelic diversity, a practical means of preserving and using minor root crop genetic resources. *Exp. Agric.* 41:475-489.
- León, J. 1968. *Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales.* Ed. IICA, Lima. 487 p.

- Maxted, N, Wawkes, JG, Guarino, L y Sawkins, M. 1997. Towards the selection of taxa for plant genetic conservation. *Genet. Resour. Crop Evol.* 44:337-348.
- Okeke, SE. 1992. The correct nomenclature of the Nigerian species of *Xanthosoma* Schott (Araceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 110:267-75.
- MBG (Missouri Botanical Garden). 2011. Tropicos® Electronic Database: *Xanthosoma*. Online: <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Xanthosoma&commonname>. Consultado junio 2011.
- Mbouobda, HD, Boudjeko, T, Djocgoue, PF, Tsafack, TJJ y Omokolo, DN. 2007. Morphological characterization and agronomic evaluation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) germplasm in Cameroon. *J. Biological. Sci.* 7:27-33.
- Mok, M y Mok, DWS. 1985. The metabolism of [¹⁴C]-TDZ in callus cultures of *Phaseolus lunatus*. *Physiol. Plant.* 65:427-432.
- Mok, MC, Mok, DWS, Turner, JE y Mujer, CV. 1987. Biological and biochemical effects of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture systems. *HortScience* 22:1194-1196.
- Mok, MC, Martin, RC, Dobrev, PI, Vanková, R, Ho, P-S, Yonekura-Sakakibara, Sakakibara, H y Mok, DWS. 2005. Topolins and hydrixylated thidiazuron derivatives are substrates of cytokinin oglucosyltransferase with position specificity related to receptor recognition. *Plant Physiol.* 137:1057-1066.
- Morton, JF. 1972. Cocoyams (*Xanthosoma caracu*, *X. atrovirens* and *X. nigrum*), ancient root- and leaf- vegetables, gaining economic importance. *Proc. Flo. St. Hortic. Soc.* :85-94.
- Müller, D y Leyser, O. 2011. Auxine, cytokinin and the control of shoot branching. *Ann. Bot.* 107:1203-1212.
- Murch, SJ y Saxena, PK. 2001. Molecular fate of thidiazuron and its effects on auxin hypocotyls tissues of *Pelargonium X hortorum* Bailey. *Plant Growth Regul.* 35:269-275.
- Murthy, BNS, Murch, SJ y Saxena, PK. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 34:267-275.
- Navarro, L. 1988 Application of shoot-tip grafting *in vitro* to woody species. *Acta Hort.* 227:43-55.
- Nicolson, DH. 1975. A new leptotypification of the genus *Xanthosoma* Schott (Araceae). *Taxon* 24: 345-347.

- O'Hair, SK y Asokan, MP. 1986. Edible aroids: botany and horticulture. *Hortic. Rev.* 8:43-99.
- Onokpise, OU, Meboka, M y Wutoh, JG. 1992. Hybridization and fruit formation in macabo cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Ann. Appl. Biol.* 120:527-535.
- Pacumbaba, RP, Wutoh, JG y Meboka, MM. 1992. Protocols to screen cocoyam accesions for resistance or tolerant to cocoyam root rot disease in Cameroon. *Plant Dis.* 76:768-770.
- Quero-García, J, Ivancic, A y Lebot, V. 2010. Taro and Cocoyam. In: Bradshaw, JE (ed.). *Root and Tuber Crops. Handbook of Plant Breeding 7.* Springer, Nueva York. Pp. 149-172.
- Rodríguez, F, Ghislain, M, Clausen, AM, Jansky, SH y Spooner, DM. 2010. Hybrid origins of cultivated potatoes. *Theor. Appl. Genet.* 121:1187-1198.
- Rodríguez-Montero, W. 1994. Las raíces y tubérculos tropicales como alternativa de producción en Costa Rica. *Bol. Téc. EEFB 1:* 67-79.
- Roitsch, T y Ehneß, R. 2000. Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regul.* 32:359-367.
- Sánchez-Chiang, N y Jiménez, JM. 2010. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. *Agron. Mesoam.* 21:193-205.
- Sarasan, W, Cripps, R, Ramsay, MM, Atherton, C, McMichen, M, Prendergast, G y Rowntree, JK. 2006. Conservation *in vitro* of threatened plants: progress in the past decade. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 42:206-214.
- Srisuwan, S, Sihachakr, D y Siljak-Yakovlev, S. 2006. The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches. *Plant Sci.* 171:424-433.
- Standley, PC. 1937. *Flora of Costa Rica. Part I.* Field Mus. Nat. Hist. Bot. ser. 18:1-398.
- Thro, MA, Roca, WM, Restrepo, J, Caballeros, H, Poats, S, Ecobar, R, Mafla, G y Hernández, C. 1999. Can *in vitro* biology have farm-level impact for small-scale cassava farmers in Latin America? *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 35:382-387.
- Van Staden, J, Zazimalova, E y George, EF. 2009. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. In: George, EF, Hall, M y De Klerk, G.J. (eds.). *Plant Propagation by Tissue Culture. 3ra. ed. Tomo 1. The Background.* Springer, Dordrecht. Pp. 205-226

- Vavilov, NI. 1926. Origin and Geography of Cultivated Plants. (Ruso). Bull. Appl. Bot. Plant Breed. 16:3-248.
- Victor, JMR, Murch, SJ, Krishnaraj, S y Saxena, PK. 1999. Somatic embryogenesis in peanut: the role of thidiazuron and N⁶-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis. Plant Growth Regul. 28:9-15.
- Wilkin, P, Schols, P, Chase, MW, Chayamarit, K, Furness, CA, Huysmans, S, Rakotonasolo, F, Smets, E y Thapyai, C. 2005. A Plastid Gene Phylogeny of the Yam Genus, *Dioscorea*: Roots, Fruits and Madagascar. Syst. Bot. 30:736-749.
- Zaldivar, ME, Rocha, OJ, Castro, E y Barrantes, R. 2002. Species Diversity of Edible Plants Grown in Homegardens of Chibchan Amerindians From Costa Rica. Hum. Ecol. 30:301-316.
- Zohary, D. 1999. Monophyletic vs. polyphyletic origin of the crops on which agriculture was founded in the Near Easth. Genet. Resour. Crop. Evol. 46:133-142.