Micropropagación de Tres Araceas Comestibles Libres de Virus[1]

L. Gómez, Ml. Monge, R. Valverde*, O. Arias*, T. Thorpe***

ABSTRACT

A method for the rapid multiplication of three edible aroids, which were free of Dasheen Mosaic Virus (DMV) in vitro, is presented. Plants of taro, and white and purple cocoyam were developed from shoot apex culture in vitro and determined to be free of DMV. Under aseptic conditions the roots and the aerial parts were eliminated, leaving only a small portion consisting of the central corm. This portion was divided by two transverse cuts into three zones: apical, middle, and basal. These sections were cultured on a Murashige and Skoog medium supplemented with indoleacetic acid (IAA; 0.01 and 0.05 mg · l^{-1}) and with 6-benzylaminopurine (6-BAP 0, 1.00, 2.00 and 4.00 mg · l^{-1}) in all possible combinations, with the aim of inducing the development of the pre-formed axillary buds. The greatest production of auxillary bud breaks occurred in the apical zone; in the middle and basal zones, there was practically no bud growth. The combination of 0.05 mg · l IAA and 1.00 mg · l of 6-BAP led to the greatest number of development buds in the three cultures; an average of 5 shoots in the purple cocoyam and taro, and 3.35 in the white cocoyam were formed. Use of the entire corm from which the terminal bud was removed, produced the greatest number of shoots, similar to that of the apical section. Furthermore, this method reduced the required amount of manipulation of the material. Shoots rooted without problem in the medium with or without growth regulators and after 40-45 days, complete plants were obtained. They could be transplanted to non-sterile conditions, or could be used for in vitro multiplication again. The percentage survival at the time of establisment ex vitro was 95 to 100%. This method of propagation in vitro increases the number of plants produced, when compared to conventional methods, and opens up the possibilities of establishment of a program of production of "seeds" of virus-free edible aroids. In addition, it facilitates the conservation of plants free of virus with a low risk of re-infection, as well as the international exchange of healthy material.

COMPENDIO

Se presenta un método para la multiplicación rápida in vitro de tres aráceas comestibles, libres del Virus del Mosaico de la Malanga (DMV). Se tomaron plántulas de ñampí, tiquisque blanco y tiquisque morado desarrolladas in vitro y certificadas como libres del DMV. Bajo condiciones asépticas, se les eliminó las raíces y la parte aérea, dejando únicamente una pequeña porción compuesta por el cormo central. Dicha porción se dividió, mediante dos cortes transversales, en tres zonas: apical, media y basal. Estas secciones se cultivaron en un medio de Murashige y Skoog suplementado con Acido Indolacético o AIA (0, 0.01 y 0.05 mg · l^{-1}) y con 6-Bencilaminopurina o 6-BAP (0, 1, 2 y 4 mg · l^{-1}), en todas sus posibles combinaciones, con el fin de inducir el desarrollo de las yemas axilares preexistentes. La mayor producción de brotes ocurrió en la zona apical; en las zonas media y basal prácticamente no hubo brotadura. La combinación de 0.05 mg · l^{-1} de AIA + 1.00 mg · l^{-1} de 6-BAP posibilitó la obtención del mayor número de brotes en los tres cultivos: cinco brotes en tiquisque morado y en ñampí y 3.35 brotes en tiquisque blanco. Con el empleo del cormo central, en etapa completa de formación y en ausencia de la yema terminal, se obtuvo un número de brotes similares al de la sección apical y se redujo el manipuleo del material. Los brotes enraizaron sin problema, tanto en el medio con reguladores de crecimiento como en ausencia de los mismos. A los 40-45 días se obtuvieron plántulas completas que pueden ser transferidas a condiciones no estériles o bien, utilizadas nuevamente en el proceso de multiplicación in vitro. El porcentaje de sobrevivencia al establecimiento en invernadero fue del orden del 95 al 100%. El método de propagación in vitro aumenta la tasa de multiplicación en mayor grado, con relación a los métodos convencionales y abre la posibilidad de establecer un programa de producción de "semilla" de aráceas comestibles que esté libre de virus. Además, facilita la conservación de las plantas libres de virus sin riesgo de reinfección y el intercambio internacional de material sano.

INTRODUCCION

Los géneros comestibles de la familia Araceae (*Xanthosoma* y *Colocasia*) son una fuente importante de alimento e ingreso en diversas regiones tropicales y subtropicales (15, 22)

En Costa Rica, su cultivo se ha incrementado en los últimos años como producto de exportación no tradicional, debido a su buena aceptación en los mercados de Norte América y Europa. Por otra parte, su gran adaptación al trópico bajo húmedo (TBH) les brinda amplias posibilidades como cultivo base para el desarrollo de esta zona ecológica que comprende el 48% del territorio nacional, pero alberga sólo al 24% de la población (18). Las aráceas se propagan tradicionalmente en forma vegetativa con el uso de cormos principales y cormelos laterales (15). Esto ha contribuido a la diseminación y generalización de en-

1 Recibido para publicación el 28 de junio 1988

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

** Grupo de Investigaciones en Fisiología Vegetal, Departamento de Biología, Universidad de Calgary, Canadá.

fermedades entre las que se destacan las infecciones virales y dentro de éstas, el virus mosaico de la malanga (Dasheen Mosaic Virus o DMV) es el de mayor relevancia (24). Este virus fue inicialmente descrito por Zettler *et al.* en Florida (23) y desde entonces se ha encontrado en por lo menos 10 países pertenecientes a tres continentes (24). En Costa Rica, Ramírez (17) encontró que la incidencia del virus en las plantaciones comerciales de tiquisque (*Xanthosoma* spp.) es por lo menos de 80%. Por su parte, Monge y Arias (10) y Monge *et al.* (11) establecieron que este patógeno causa disminuciones en el rendimiento de por lo menos un 47% en tiquisque morado (*X. violaceum*), un 24% en tiquisque blanco (*X. sagittifolium*) y de un 17% en ñampí (*C. esculenta* var. *antiquorum*). Además, observaron un deterioro en la calidad del producto por efecto del patógeno (10).

El cultivo **in vitro** de ápices caulinares (meristema más uno o dos primordios foliares) de estas especies se ha utilizado con éxito para la obtención de plantas libres de DMV (4, 5, 9, 11, 20). La aplicación de esta técnica, sin embargo, se ve limitada por el tiempo necesario para la obtención de las plantas sanas y por una baja tasa de multiplicación. Se requieren entre dos y cuatro meses, en el mejor de los casos, para la diferenciación de las plántulas (4, 11). En investigaciones en las que se ha inducido la formación de un callo, previo a la diferenciación de plantas, se informa de una tasa de multiplicación que varía de uno a siete (20). Cuando la organogénesis es directa (6). Las plantas muestran una fuerte dominancia apical y no ocurre brotadura (11).

El establecimiento de un método eficiente de multiplicación de las plantas libres de virus es necesario si se desea optimizar los rendimientos y mejorar la calidad del producto en las aráceas comestibles. Para *X. caracu*, Asokan, O'Hair y Litz (1) desarrollaron un método de multiplicación rápida que permite obtener entre 45 y 70 plantas por ápice cultivado en un período de 14 a 16 semanas, a partir de ápices con tres o cuatro primordios foliares. Estos autores emplearon una fase previa de cultivo en medio líquido y en agitación constante; señalaron, además, la posibilidad de aplicar el método utilizando ápices provenientes de plantas certificadas como libres del DMV.

El presente trabajo expone un método de micropropagación que permite la multiplicación rápida de plantas de ñampí, de tiquisque blanco y de tiquisque morado libres de virus.

MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con plántulas de ñampí (*C. esculenta* var. *antiquorum*), de tiquisque blanco (*X. sagittifolium*) y de tiquisque morado (*X. violaceum*) desarrolladas **in vitro** según la metodología previamente descrita (11). Además, estas plantas se certificaron como libres de virus mediante la técnica de tinción de las inclusiones citoplasmáticas (3). Bajo condiciones asépticas se eliminaron las raíces y la parte aérea (incluido el meristema apical), dejando únicamente una pequeña porción compuesta por el cormo principal en formación. El cormo se refiere a la estructura sólida del tallo a partir de la cual se desarrolla la parte aérea de la planta. A dicha porción se le practicaron dos cortes transversales obteniendo tres secciones de cormo que se denominaron zona apical, zona media y zona basal, de acuerdo a su cercanía al meristema apical (Fig. 1A). Estas secciones se colocaron en un medio de cultivo que consistió de las sales inorgánicas de Murashige y Skoog (13) (MS); 100 mg · l^{-1} de inositol, 0.4 mg · l^{-1} de hidrocloruro de tiamina, 0.5 mg · l^{-1} de piridoxina, 0.5 mg · l^{-1} de ácido nicotínico y 3% de sacarosa. Este medio básico se suplementó con los reguladores de crecimiento, ácido indolacético (AIA) (0; 0.01 y 0.05 mg · l^{-1}) y 6-bencilaminopurina (6-BAP) (0; 1; 2 y 4 mg · l^{-1}) en todas sus posibles combinaciones. El pH del medio se ajustó a 5.7 previo a la adición del agar (Sigma, 0.8%). El medio se esterilizó en autoclave a 1 atm. de presión

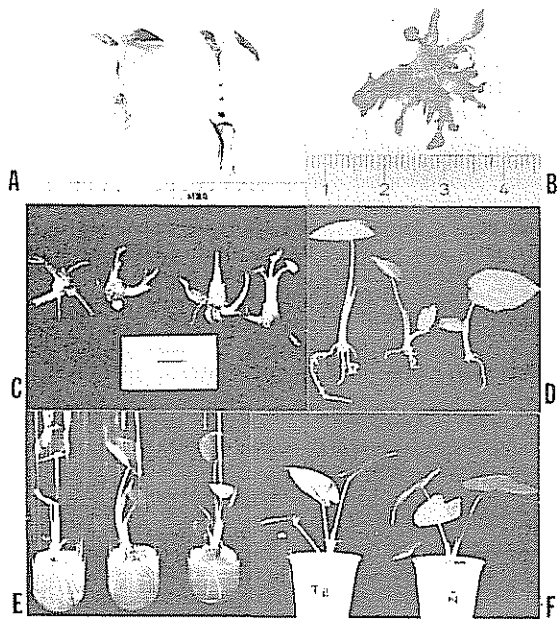

Fig. 1. Pasos en la micropropagación de aráceas libres de virus. A. Seccionamiento del cormo central en formación (tiquisque blanco). B. Sección apical mostrando nuevos brotes (ñampí). C. Proliferación de brotes axilares en el cormo central sin yema terminal (a, b) y con terminal (c, d) ñampí). D. Parte aérea resultante del seccionamiento, enraizada en una mezcla de suelo: piedra pómez-3:1 (ñampí, tiquisque morado, tiquisque blanco). E. Desarrollo de los brotes axilares a los 25-30 días (ñampí). F. Plantas de tiquisque blanco (TB) y de ñampí (Ñ) un mes después de su transplante a suelo.

durante 15 minutos. En este experimento se utilizaron tubos de cultivo de 150 x 25 mm en los que se colocó 10 ml de medio.

Los cultivos se incubaron en una cámara de crecimiento (23 + 2°C) con un fotoperíodo de 12 h y una intensidad aproximada de 46 μM E $m^{-2} \cdot s^{-1}$. Se utilizaron 150 plántulas de cada especie, para un promedio de 12 secciones de cada zona por tratamiento (una sección/tubo).

RESULTADOS

En experiencias preliminares se trató de multiplicar plantas libres de virus, de las tres especies, a partir de plántulas completas y de ápices. Las primeras se cultivaron en un medio MS + 5 mg · l^{-1} de kinetina + 2 mg · l^{-1} de AIA y en el segundo caso se evaluaron dosis crecientes de las citocininas: 6-bencilominopurina, kinetina y 2-isopentoniladenina en dosis desde cero hasta 40 mg · l^{-1} a intervalos de 5 mg · l^{-1}. En ambos casos, la mayor brotadura obtenida fue de dos a tres brotes, en el mejor de los casos.

Lo anterior motivó a que se considerara el seccionamiento del cormo principal en formación, en analogía a lo que ocurre en la propagación convencional (19), como un método de multiplicación. Para ello, se cultivaron estas secciones en las diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento (AIA/6-BAP), a fin de promover una mayor producción de brotes.

A) Respuesta de las secciones

La Fig. 2 muestra el número de brotes (promedio de todos los tratamientos) que se obtuvo en cada zona en las tres especies. La mayor producción de brotes ocurrió en la zona apical. En las zonas media y basal, la brotadura fue pobre. No se observó diferencia entre especies para esta tendencia aunque el número de brotes promedio por sección varió para cada una de ellas.

B) Efecto de los reguladores de crecimiento

Debido a la escasa brotadura obtenida en las zonas media y basal, en adelante se describen únicamente los resultados obtenidos utilizando la sección apical.

El Cuadro 1 muestra el efecto de las diferentes combinaciones de AIA/6-BAP sobre la producción de brotes en la zona apical de las tres especies, después de 60 días de incubación. La combinación de 0.05 mg · l de AIA y 1.00 mg · l^{-1} de 6-BAP posibilitó la obtención del mayor número de brotes en los tres cultivos: 5 brotes en tiquisque morado y en ñampí y 3.35 brotes en tiquisque blanco. También, se observaron casos excepcionales en los que se obtuvo hasta 13 brotes por sección apical (Fig. 1C). En tiquisque blanco se obtuvo una brotadura similar a la de la mejor combinación de AIA/6-BAP (0.05/1 mg · l^{-1}) con la sola aplicación de AIA, a razón de 0.01 mg · l^{-1}.

C) Efecto del genotipo

Se observaron diferencias entre los cultivos en relación a la producción de brotes en respuesta al seccionamiento y a la aplicación de reguladores de creci-

Cuadro 1. Producción *in vitro* de brotes en la zona apical del cormo central en formación de tres especies de aráceas comestibles en respuesta a la aplicación de diferentes niveles de auxina y citocinina. Resultados a los 60 días.

AIA/6-BAP (mg/l)		No. de brotes ($\bar{X}$)*		
		Tiquisque blanco	Tiquisque morado	Ñampí
0	0	1.60	1.25	0.05
	1	2.25	3.00	1.70
	2	1.70	3.00	2.25
	4	2.25	1.75	0.75
0.01	0	3.00	0.30	1.30
	1	1.30	4.50	1.30
	2	2.30	4.00	1.70
	4	1.00	3.50	1.50
0.05	0	1.30	1.50	0.70
	1	3.35	5.00	5.00
	2	1.30	1.25	2.50
	4	0.75	2.50	1.40

* Número de brotes promedio, obtenido a partir de 150 explantes de cada especie.

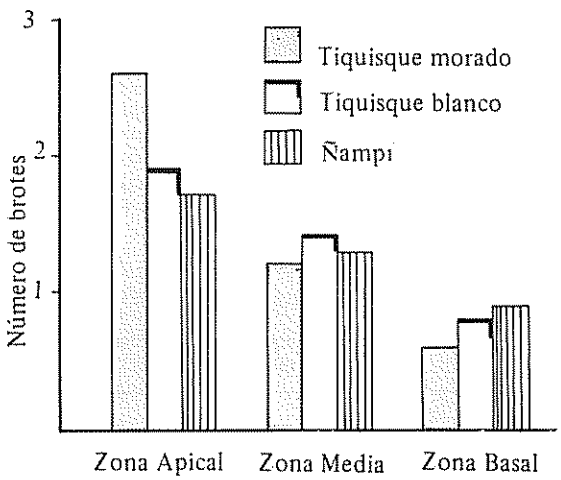

Fig. 2. Número de brotes que se produjeron en cada sección del cormo central en formación, en las tres especies (promedio de 12 tratamientos).

miento (Cuadro 1, Fig 3). En ñampí, prácticamente no ocurrió brotadura en ausencia de reguladores de crecimiento mientras que en tiquisque blanco y en tiquisque morado, la brotadura fue similar a la observada en varias combinaciones de AIA/6-BAP. En tiquisque morado y en ñampí se observó una inhibición en la inducción de la botadura con la dosis de 4 mg · l^{-1} de 6-BAP en ausencia de AIA (Figs 3b y 3c), no así en tiquisque blanco (Fig 3a). En términos generales, para tiquisque morado y ñampí, conforme se aumentó la dosis de 6-BAP, la producción de brotes fue menor La aplicación de AIA pareció disminuir este efecto inhibitorio (Fig 3)

D) Efecto de la supresión de la yema terminal

En otra experiencia se evaluó el efecto de la combinación 0 05 mg · l^{-1} de AIA + 1 00 mg · l^{-1} de BAP sobre la producción de brotes en el cormo principal, con y sin yema terminal (Cuadro 2). En el cormo sin yema apical, se obtuvo un número de brotes similar al obtenido con la zona apical Cuando la yema apical estuvo presente, se observó un rápido crecimiento del brote principal y una disminución en el número y en el desarrollo de los nuevos brotes (Fig 1C)

Por otra parte, cuando se eliminó la yema terminal dejando una sección de cormo adherida a la base de la parte aérea, fue posible recuperar la planta madre mediante el enraizamiento de este material en una mezcla de suelo – piedra pómez (3:1) (Fig 1D) Se observó, sin embargo, que el número de brotes obtenido **in vitro** fue menor conforme aumentó el tamaño de la sección del cormo adherida a la parte aérea

En todos los casos, la presencia de los brotes fue visible después de 5 a 7 días de incubación Cuando los brotes permanecieron unidos al tejido madre, a los 60 días se tienen plántulas completas que pueden ser separadas y transferidas a condiciones no estériles o bien, utilizadas nuevamente en el proceso de multiplicación **in vitro**. En este período, sin embargo, se observó un desarrollo desigual entre los brotes demostrado por diferencias en tamaño. Cuando los brotes fueron separados, al alcanzar un tamaño adecuado para su fácil disección (15 días después de incubación) y transferidos a un medio sin reguladores de crecimiento, se obtuvieron plántulas completas y de tamaño

Cuadro 2. Efecto de la supresión de la yema terminal en la producción de brotes axilares en ñampí (*Colocasia esculenta* var. *antiquorum*) tiquisque morado (*Xanthosoma violaceum*) y tiquisque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*) incubados en un medio MS + 0.05 mg l^{-1} de AIA + 1 mg l^{-1} de 6-BAP. Resultados a los 25 días de incubación.

Tratamiento	No. de brotes* ($\bar{X}$)		
	Tiquisque blanco	Tiquisque morado	Ñampi
Sin yema terminal	3 3	4 0	4 0
Con yema terminal	1.6	1.6	2.6

* Promedio de 10 explantes por tratamiento.

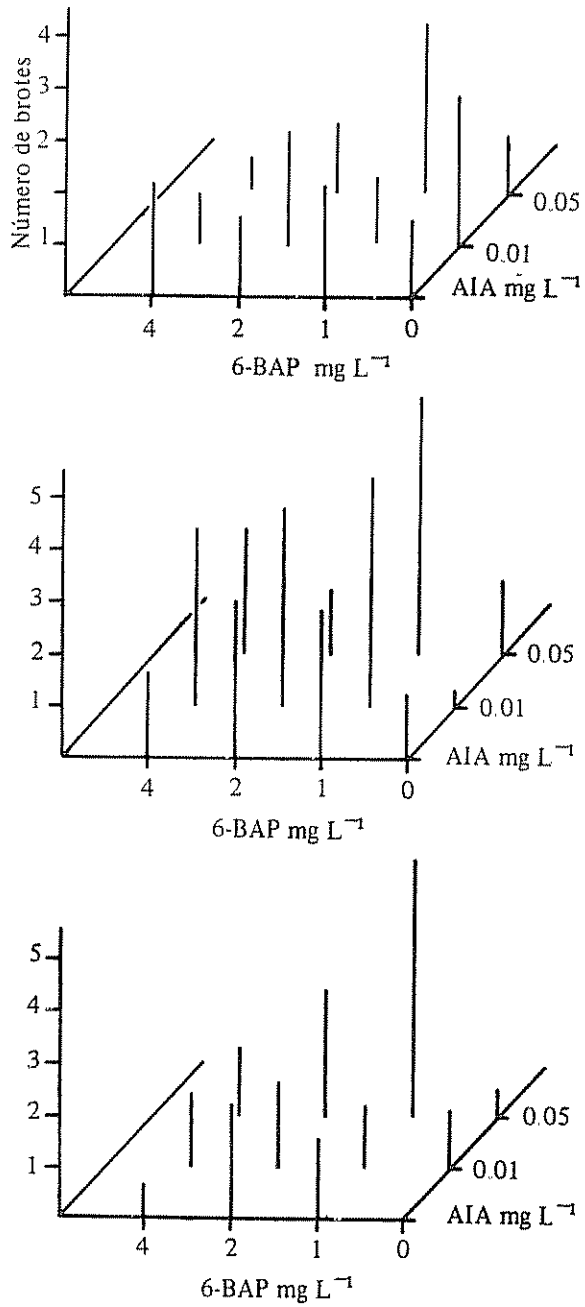

Fig. 3. Número de brotes producidos en la zona apical en Tiquisque Blanco (A), Tiquisque Morado (B), y Ñampí (C) después de 60 días de incubación.

uniforme en un período de 40 a 45 días (Fig 1E), las cuales se pueden transplantar a condiciones no estériles o continuar en el proceso de multiplicación (Fig 1E)

Las plantas obtenidas **in vitro** se transfirieron a condiciones no estériles según la metodología previamente descrita (11), con la variante de la utilización de un sistema de neblina ("mist") en lugar de los vasos plásticos para mantener una alta humedad relativa El porcentaje de sobrevivencia fue del orden de 95-100% (Fig 1F)

DISCUSION

La multiplicación **in vitro** de plantas se puede realizar mediante uno o varios de los siguientes procesos: La embriogénesis somática, la inducción de brotes adventicios y el aumento de la proliferación axilar (13) Los resultados expuestos son un ejemplo del tercer proceso En las aráceas comestibles, el cormo principal o central representa al tallo, del cual salen los demás órganos de la planta (raíces, hojas y cormelos) Las hojas están unidas al cormo por largos pecíolos y parten del ápice de éste en una distribución en espiral. En la base de los pecíolos, se diferencian las yemas axilares (15, 20) La naturaleza axilar de la brotadura obtenida **in vitro** se manifiesta en la aparición de los brotes en diferentes planos, siguiendo una disposición en espiral (Fig 1C), similar a la que presentan las hojas; además, el número de brotes obtenido guardó relación con el número de hojas que poseían las plantas. Brotes de origen adventicio pudieron estar presentes en aquellos casos en los que se observó un gran número por sección (Fig 1B), aunque no se realizó un estudio histológico para comprobar este fenómeno. Tampoco se observaron variaciones morfológicas en las plantas obtenidas.

La micropropagación mediante el estímulo de la proliferación axilar es preferida sobre otros procesos, especialmente aquellos que involucran una fase previa de callo, aún cuando el número de brotes inicial sea bajo (de tres a cinco en este caso), debido a que se logra una mayor estabilidad genética en las plantas regeneradas Este hecho es importante si interesa mantener las características de la planta madre. Los meristemas axilares son menos propensos a cambios genéticos, en comparación con los meristemas adventicios (7).

Con el sistema de micropropagación, expuesto en el presente estudio, es posible obtener una elevada producción de plántulas a partir de una planta sana sobre la base de un incremento exponencial Es posible obtener de tres a cinco nuevos brotes cada 40 a 45 días, los cuales se pueden multiplicar en ciclos sucesivos. Los métodos de propagación convencional requieren mucho tiempo y área de cultivo; son sumamente costosos y tienen una tasa de multiplicación relativamente baja Además, las plantas están expuestas a los ataques de plagas y enfermedades que causan un deterioro paulatino del material de siembra En el caso particular de las aráceas comestibles, el DMV y el complejo "marchitamiento-pudrición" de las raíces o "mal seco" son los principales problemas patológicos. En un trabajo previo, con plantas libres del DMV (12, 14), se estableció, bajo condiciones de campo, que un ciclo de cultivo fue suficiente para que ocurriera una reinfección total del material.

Las plantas de los géneros *Xanthosoma* y *Colocasia*, obtenidas **in vitro** por lo que Hicks (6) llama organogénesis directa, presentan una fuerte dominancia apical En esta investigación se encontró que es posible incrementar la brotadura, en ambos géneros, mediante la combinación del seccionamiento del cormo principal y la aplicación exógena de reguladores de crecimiento (auxina/citocinina). Un tratamiento similar ha sido descrito por otros investigadores en cala (2) y en banano (22) A diferencia de lo que ocurre en otras monocotiledóneas (7, 8), se encontró una pobre respuesta a la bratadura cuando el único fitorregulador en el medio de cultivo fue la citocinina (bencilaminopurina) La adición del ácido indolacético (AIA) aparentemente modificó el rango de acción de la bencilaminopurina (6-BAP) y favoreció la brotadura en la mayoría de las combinaciones evaluadas, sobre todo en tiquisque morado y en ñampí (Fig. 3). En este sentido, es conveniente señalar que la utilización de las auxinas como modificadoras de la acción de la citocininas en la promoción del crecimiento axilar ha sido, también, propuesta por Hussey (7) para otras monocotiledóneas. Por otra parte, generalmente, se prefiere utilizar únicamente citocininas para obviar y/o reducir al máximo la posibilidad de la formación de callo. En esta ocasión, en ninguna de las combinaciones auxina/citocinina utilizadas, se observó callo, lo que reduce las posibilidades de variación.

La diferencia observada entre secciones para la producción de brotes (Fig 2) se debe, probablemente, al número de yemas presentes en cada zona del cormo. En bulbos y cormos, las yemas axilares están muy próximas entre sí (8), al seccionar el cormo es posible concentrar un buen número de ellas en una de las zonas. Por otra parte, en las aráceas comestibles, los pecíolos de las hojas emergen del ápice del cormo lo que hace suponer que en la zona apical existe el mayor número de yemas axilares. Esto se relacionó estrechamente con el hecho de que, al eliminar el ápice dejando una sección del cormo adherida a la base de la parte aérea, el número de brotes obtenido **in vitro** disminuyó

Por otra parte, el cultivo **in vitro** (del cormo principal, con y sin yema terminal, permitió establecer la influencia de la yema apical sobre la producción y el desarrollo de los nuevos brotes. Cuando el ápice estuvo presente, disminuyeron tanto el número como el tamaño de los brotes (Cuadro 2, Fig. 1C) debido a un efecto de dominancia apical, lo que refuerza las observaciones preliminares sobre la fuerte dominancia apical que muestran estas especies así como la necesidad de combinar la supresión de la yema apical y la utilización de los reguladores de crecimiento para estimular la mayor producción de brotes. Resultados congruentes con los obtenidos en esta investigación han sido publicados por Soto y Arce (19) y por Pardales y Dalion (16) en trabajos con proposición convencional. Los primeros encontraron que, cuando las plantas provienen de propágulos sin yema terminal, producen un mayor número de brotes. Los segundos, por su parte, desarrollaron un sistema de propagación rápida para *C. esculenta* mediante la eliminación de la yema terminal de los cormelos.

Finalmente, los resultados obtenidos en esta investigación dejan claramente establecido un procedimiento para la propagación por cultivo **in vitro** de las aráceas comestibles, el cual permite la multiplicación rápida de un gran número de plantas sanas y genéticamente idénticas abriendo la posibilidad de establecer un programa permanente de producción de "semilla" básica libre de virus y de otros patógenos con lo cual se aseguran mejores rendimientos agronómicos y calidad superior de la cosecha.

LITERATURA CITADA

1. ASOKAN, M.P.; O'HAIR, S.K.; LITZ, R.E. 1984. Rapid multiplication of *Xanthosoma caracu* by in vitro shoot tip culture. HortScience 19(6):885-886.

2. COHEN, D. 1982. Micropropagation of *Zantedeschia* hybrids. Combined Proceeding International Plant Propagators Society 31:312-316.

3. CHRISTIE, R.G.; EDWARSON, J.R. 1977. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. USA, Fla., Agricultural Experiment Stations. 155 p. Monograph Series no. 9.

4. GUPTA, P.P. 1985. Plant regeneration and variabilities from tissue culture of cocoyams (*Xanthosoma sagittifolium* and *X. violaceum*). Plant Cell Reports 4:88-91.

5. HARTMAN, R.D. 1974. Dasheen (DMV) en Costa Rica other phytopathogens eliminated from caladium, taro and cocoyam by culture of shoot tips. Phytopathology 64:237-240.

6. HICKS, G.S. 1980. Patterns of organ development in plant tissue culture and the problem of organ determination. The Botanical Review 46(1):1-23.

7. HUSSEY, G. 1976. In vitro release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. Annals of Botany 40:1323-1325.

8. HUSSEY, G. 1977. In vitro propagation of some members of Lilliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. Acta Horticulturae 78: 303-309.

9. JACKSON, G.V.; BALL, E.A.; ARDITTI, J. 1977. Tissue culture of taro, *Colocasia esculenta* (L) Schott. Journal of Horticultural Science 52:373-382.

10. MONGE, M.; ARIAS, O. 1984. Efecto del virus del mosaico en tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). In Congreso Agronómico Nacional (6, San José, C.R.). Resúmenes. San José, Colegio de Ingenieros Agrónomos. pp. 197-198.

11. MONGE, M.; ARIAS, O.; RAMIREZ, P. 1987. Obtención de plantas de tiquisque blanco (*Xanthosoma sagittifolium*), de tiquisque morado (*Xanthosa violaccum*) y de ñampí (*Colocasia esculenta*) libres de virus por medio del cultivo in vitro de ápices. Agronomía Costarricense 11(1):71-79.

12. MONGE, M.; GOMEZ, L.; VALVERDE, R.; ARIAS, O. 1987. Evaluación preliminar del comportamiento en el campo de plantas de ñampi (*Colocasia Esculenta* var. *antiquorum*) provenientes del cultivo in vitro de ápices. Agronomía Costarricense 11(2): 189-194.

13. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15:473-497.

14. OBANDO, I.; FALLAS, M.; MONGE, M.; VALVERDE, R. 1986. Estudio preliminar sobre la tasa de reinfección viral y el rendimiento en el campo de tiquisque blanco, propagado in vitro. In Congreso Agronómico Nacional 7/Congreso de Horticultura de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas Región Tropical A.S.H.S. (33, San José, C.R.). Resúmenes. San José, Colegio de Ingenieros Agrónomos/Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas Región Tropical A.S.H.S. v.1, p.363-364.

15. ONWENE, I.C. 1978. The tropical tuber crops: yams, cassava, sweet potato, cocoyam. New York, Willey. 234 p.

16. PARDALES, J.R.; DALION, S.S. 1986. Methods for rapid vegetative propagation of taro. Tropical Agriculture (Trinidad) 63(4):268-280.

17. RAMIREZ, P. 1985. Aislamiento y caracterización del virus del mosaico del Dasheen mosaic virus and Rica. Turrialba (C.R.) 35(3): 79-283.

18. RODRIGUEZ, W. 1984. Aráceas comestibles en Costa Rica. In Congreso Agronómico Nacional (6., San José, C.R.) Secciones Perspectivas y Actualización. San José, C.R., Colegio de Ingenieros Agronómos. p. 87-107.

19. SOTO, J.A.; ARZE, J.A. 1986. Variabilidad en las poblaciones de tiquisque morado (*Xanthosoma violaceum*) en relación con el material de propagación. I. Peso del propágulo y presencia o ausencia de la yema terminal. Turrialba (C.R.) 36(1):39-46.

20. STRAUSS, M.S.; ARDITTI, J. 1980. Plantlet regeneration from shoot tip cultures of *Xanthosoma caracu*. Annals of Botany 45(2):209-212.

21. WANG, J.K. 1983. Taro: A review of *Colocasia esculenta* and its potentials. U.S.A., University of Hawaii Press. 400 p.

22. WONG, W.C. 1986. In vitro propagation of banana (*Musa* spp.): initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6(2): 159-166.

23. ZETTLER, F.W.; FOXE, M.J.; HARTMAN, R.D.; EDWARSON, J.R.; CHRISTIE, R.C. 1970. Filamentous viruses infecting dasheen and other araceous plants. Phytopathology 60:983-987.

24. ZETTLER, F.W.; HARTMAN, R.D. 1987. Dasheen mosaic virus as a pathogen of cultivated aroids and control of the virus by tissue culture. Plant Diseases 71(11):958-963.

Notas y Comentarios

Gusanos disfrazados

Las orugas de una mariposa llamada **Nemoria arizonaria** se esconden de los predadores tomando la forma de los alimentos mismos que ellas comen. Las orugas **Nemoria** emergen en dos hornadas, una en primavera y la otra en verano; pero las dos hornadas son bastante diferentes. Erick Greene, en la Universidad de Princeton, en New Jersey, encontró que las larvas que nacían en primavera se desarrollaban como orugas que se parecían a las yemas florales del roble del cual se alimentaban (**Science**, v. 243, p. 643). Estas yemas son de un color amarillo intenso, con muchas pequeñas proyecciones en su cuerpo. Tienen también muchos pequeños puntos pardos en su espalda, que simulan los estambres de esas yemas florales.

Las larvas que nacen en verano se desarrollan como orugas que parecen ramillas. Ellas son de color verdigris, con proyecciones mucho más pequeñas. Las orugas nacidas en verano también tienen mandíbulas mucho más grandes que las de las nacidas en primavera lo que les permite comer las correosas hojas del roble. Las larvas nacidas en verano difieren en otros aspectos, aparte de la dieta: se adaptan a las temperaturas más altas y a los días más largos.

Con el objeto de encontrar lo que hace que las orugas se desarrollen diferentemente, Greene crió las larvas en el laboratorio. Encontró que la dieta era crucial: todas las larvas se desarrollaban en la forma de ramitas si se les daba de comer hojas, cualquiera que fuese la temperatura o la cantidad de luz. Similarmente, todas las larvas alimentadas con yemas se desarrollaban en la "forma de yemas".

Las hojas contienen niveles mucho más altos de taninos que las yemas. Entonces, para establecer el efecto de los taninos, Greene trató de criar larvas con o sin esos compuestos. Seis por ciento de las larvas criadas con hojas, o con yemas más taninos, desarrollaron en la forma de yemas y doce por ciento desarrollaron en esta forma si las alimentaba con yemas y hojas a la vez. Pero, 94 por ciento se desarrollaron en la forma de yemas si las alimentaba solamente con yemas.

Las larvas que nacen en la primavera tienen una ventaja sobre aquellas que nacen en verano. Las yemas son más nutritivas que las hojas, de manera que éstas son más grandes cuando se transforman en pupas. Las mariposas hembras producidas de orugas nacidas en primavera, también producen más crías que aquellas nacidas en verano. Una oruga que vive entre hojas también encara un riesgo más grande de ser detectadas y comidas por los pájaros.

Pero, si ser una "forma yema" de oruga tiene tal ventaja, ¿por qué **Nemoria** no evolucionó para producir sólo orugas que parecían yemas? La razón, sugiere Greene, es que es ventajoso para las mariposas que emergen de las formas de yema el producir una cría ese verano, antes de esperar la primavera. Cualquier forma de yema que no produjese larvas capaces de volverse como ramitas, simplemente produciría una descendencia menor que la que sí lo pudiese. Adalberto Gorbitz.