

EFECTO DE LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO PARA LA PROPAGACIÓN *in vitro* DE LA MALANGA (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott)

Silvia Gicela Saucedo Aguiar¹ Luis Edmundo Ramos Gavilanes¹ y Tanya Ximena Reyes Chancay¹

¹Unidad de Investigación Científica y Tecnológica, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Walter Andrade. Km 1 ½ vía a Santo Domingo, C.P. 73. Quevedo. Los Ríos, Ecuador. silgisauce@yahoo.es

RESUMEN

En este trabajo se ensayaron varias concentraciones y combinaciones de reguladores de crecimiento tanto para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de yemas, como para el enraizamiento y aclimatación *Ex Vitro* de explantes de Malanga (*Xantomona sagittifolium* (L) Schott.). El 68.75% de las yemas establecidas en un medio de cultivo conformado por la totalidad de las sales del MS suplementado con 0.1 mg L⁻¹ de BAP sobrevivieron sin contaminarse. En el mejor de los casos, los brotes se multiplicaron 1.91 veces y crecieron hasta 4.86 cm en el primer subcultivo que utilizó la totalidad de las sales del MS suplementado con 3 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA. En la fase de enraizamiento y aclimatación sobrevivieron el 75% de los explantes testigo, a pesar de que desarrollaron las raíces más largas (6.92 cm). Con el tratamiento conteniendo 500 mg kg⁻¹ tanto de ANA como de AIB; sobrevivieron el 80% de los brotes, los cuales desarrollaron en promedio 9.14 raíces de 5.9 cm c/u. Los tratamientos mencionados, con las concentraciones de auxina más bajas, presentaron los mejores resultados para el enraizamiento y aclimatación de las vitroplantas.

Palabras clave: *In vitro*, reguladores de crecimiento, explantes, hormona.

ABSTRACT

In this work they tested several concentrations and combinations of regulators of growth so much for the establishment and *in vitro* multiplication of yolks, since for the enraizamiento and acclimatization *Ex Vitro* of explantes of Malanga (*Xantomona sagittifolium* (L) Schott.). The 68.75% of the yolks established in a way of culture shaped by the totality of you them go out of the MS suplement with 0.1mg L⁻¹ of BAP they survived without contaminating. At best, the outbreaks multiplied 1.91 times and grew up to 4.86 cm in the first subculture that used the totality of you them go out of the MS suplement with 3 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA. In the phase of enraizamiento and acclimatization they survived 75% of the explantes witness, in spite of the fact that they developed the roots more long (6.92 cm). With the treatment containing 500 mg kg⁻¹ both of ANA and of AIB; they survived 80% of the outbreaks, which developed in average 9.14 roots of 5.9 cm c/u. The mentioned treatments, with the concentrations of auxina go down, they presented the best results for the enraizamiento and acclimatization of the vitroplants.

Key words: *In vitro*, regulators of growth, explantes, hormone.

INTRODUCCIÓN

La malanga es un cultivo, cuyo uso como alimento se remonta a la sociedad neolítica. Su nombre se originó en la Isla de Trinidad y, paulatinamente, fue expandiéndose a través de los demás países, este cultivo en el Ecuador genera una entrada de divisas de productos no tradicionales menor al 1%. Los ingresos por concepto de malanga están ligados directamente al precio internacional, pues más del 80% de la producción se exporta. La cantidad exportada de malanga se ha incrementado durante el periodo 1998–2002, alcanzando su máximo en el último año. Este incremento esta dado por el aumento de hectáreas dedicadas a la actividad de la malanga, que crecieron en 5 años de 150 a 5000. (CORPEI, 2004). Actualmente las zonas productoras

del Ecuador son Santo Domingo de los Colorados, Quevedo, Chone y Esmeraldas. La malanga es un producto no consumido por productores ni comercializado en el país, toda la producción se destina a la exportación y se debe a la falta de cultura sobre sus usos, diferentes modalidades de preparación y falta de conocimientos sobre las bondades nutricionales y palatables con respecto al resto de tubérculos y raíces.

La malanga tiene utilización muy variada; siendo los cormelos consumidos cocidos, fritos, o como harina para algunos usos. Es utilizado como sustituto de la papa en sopas o estofados. Tiene un contenido de almidón superior a la yuca. Las hojas verdes de algunos ecotipos de malanga, con bajo contenido de oxalatos, pueden consumirse cocinados como hortaliza. Tiene un alto contenido de tiamina, riboflavina, vitamina C y hierro. Es un excelente alimento por su contenido de proteína del producto

húmedo que es de 1.7 a 2.5% (Barret, 1930). Por las razones económicas y nutricionales expuestas, se considera que el cultivo de malanga seguirá expandiéndose con la consiguiente demanda de plantas de calidad, demanda que debería ser satisfecha principalmente con la propagación *in vitro* de yemas axilares y ápices caulinares de Malanga (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott). En consecuencia, nuestro objetivo es establecer un protocolo para este propósito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los instrumentos empleados en la investigación para el manejo del material vegetal fueron esterilizados en estufa a 180°C durante dos horas. Las yemas axilares y ápices caulinares para la experimentación, que se obtuvieron de cormelos previamente sembrados en el invernadero fueron colocadas en agua destilada estéril con dos gotas de tween 20 + hipoclorito de sodio al 10% por 10 minutos, luego se realizó el enjuague con agua destilada estéril por tres ocasiones, posteriormente fueron introducidos a la cámara de flujo laminar y se sumergieron los explantes en bicloruro de mercurio al 2 g L⁻¹ durante cuatro minutos, luego igualmente se enjuagó tres veces.

Para la propagación *in vitro* se usó el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS) (1962), solo o con citoquininas en las proporciones seleccionadas, ajustado el pH a 5.7, además se le adicionó antioxidante L-cisteína (30 mg L⁻¹), esterilizado con Vitrofur (esterilizante químico de laboratorio) y repartido en frascos de 250 mL de capacidad, cada uno con un volumen de 20 mL de medio de cultivo en estado líquido.

En la fase de establecimiento, las yemas se colocaron en los siguientes tratamientos: MS (testigo); MS + 0.1 mg L⁻¹ de Bencilaminopurina (BAP) y MS + 0.5 mg L⁻¹ de Bencilaminopurina (BAP). Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y ocho repeticiones de cuatro frascos por cada repetición. El crecimiento de brotes obtenidos a partir de las yemas tuvo lugar en el cuarto de crecimiento con lámparas fluorescentes de 20 y 40 Watts, y un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad.

Para el enraizamiento de los brotes obtenidos y la adaptación de vitropiantas en condiciones *ex vitro*, se emplearon bandejas germinadoras con 98 cavidades y como sustrato se utilizó arena. Las plantas crecieron en condiciones de iluminación al 25% de luz, la misma que fue regulada mediante Zarán y el riego fue aplicado con micro aspersores (microjet).

En la fase de multiplicación se utilizaron los brotes obtenidos de los explantes de la fase de establecimiento. El objetivo de esta fase fue evaluar cual es la mejor concentración de

citoquinina a emplearse en la multiplicación, para lo cual se tomaron vitropiantas de 1 a 2 cm de tamaño provenientes de la primera fase, con una edad de cuatro semanas, los que se implantaron en los siguientes tratamientos: MS (testigo); MS + 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIA (Ácido Indol-3 Acético); MS + 3 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA y MS + 4 mg L⁻¹ BAP + 2 mg L⁻¹ AIA. Cabe señalar que, en esta fase de la investigación se utilizaron concentraciones de citoquininas en una relación 2:1 (Grupta *et al.*, 1980; Nadgauda *et al.*, 1997). Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y ocho repeticiones constando de cuatro frascos por cada repetición. Para las fase de enraizamiento y aclimatación *ex vitro* las vitropiantas fueron colocadas en un medio de refrescamiento, para que se acondicionen y se desarrollen para llevarlas a condiciones de invernadero, las mismas que se trataron con diferentes concentraciones de polvo enraizador. En esta fase se utilizaron los siguientes tratamientos: Sin polvo enraizador (testigo); Polvo enraizador con 500 mg L⁻¹ ANA (Acido naptaleno acético) + 500 mg L⁻¹ AIB (Acido Indol-3 butírico); Polvo enraizador con 1000 mg L⁻¹ ANA + 1000 mg L⁻¹ AIB y Polvo enraizador con 1500 mg L⁻¹ ANA + 1500 mg L⁻¹ AIB. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y cinco repeticiones (ocho unidades experimentales por repetición). Además para establecer diferencias estadísticas entre tratamientos se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey (p=0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, se observa que los explantes contaminados, no reportaron diferencias estadísticas (P≤0.05) entre tratamientos. El tamaño de los explantes es directamente proporcional a su regeneración y crecimiento posterior *in vitro*. En la medida que aumenta el tamaño, se incrementa los valores de regeneración, pero el riesgo de aparición de patógenos en los tejidos vegetales aumenta (Pérez, 1998). Razón por lo que presentó porcentajes de entre 31.25 y 37.50% de explantes contaminados al utilizar explantes de entre 1 a 2 cm y por consiguiente un coeficiente de variación de 49.10%.

La sobrevivencia, no reportó diferencias estadísticas para cada uno de los tratamientos en estudio. El tratamiento MS y MS + 0.1 mg L⁻¹ de BAP presentó un promedio de 68.75% y un coeficiente de variación de 24.77%, siendo el más alto, sin embargo, no se encontró diferencia con respecto a los demás tratamientos (Cuadro 1). En lo referente a multiplicación de brotes se utilizaron explantes provenientes de los tratamientos de la fase de establecimiento, para evaluar el número de brotes, en el primer subcultivo el tratamiento que mejor

respuesta presentó fue MS al 100% suplementado con 3 mg L⁻¹ de BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA, con promedio de 1.91 brotes por explantes, estadísticamente ($P \leq 0.05$) similar a los tratamientos dos y cuatro, pero diferente al tratamiento uno (Cuadro 2).

Estos resultados concuerdan con García *et al.* (1999) quien obtuvo el mayor número de brotes de malanga en el tratamiento con 3 mg L⁻¹ de BAP en la micropropagación de la malanga, y difiere de los obtenidos por Malachy *et al.* (1999) quienes obtuvieron los mejores resultados al adicionar al medio de cultivo 4 mg L⁻¹ BAP con explantes de malanga. La proliferación de brotes axilares se logra con la adición de citoquininas en el medio de cultivo para romper la dominancia apical y estimular la brotación de las yemas que se encuentran en las axilas de las hojas, en algunos casos es necesaria la adición de auxinas para estimular el crecimiento de los brotes. Uno de los posibles efectos de las auxinas en la fase II es anular el efecto depresivo acumulado.

Cuadro 1. Promedios de explantes contaminados y sobrevivencia en el establecimiento *in vitro* de malanga

Tratamientos	Explantes contaminados (%)	Sobrevivencia (%)
MS	31.25 a [†]	68.75 a [†]
MS + 0.1 mg L ⁻¹ BAP	31.25 a	68.75 a
MS + 0.5 mg L ⁻¹ BAP	37.50 a	59.38 a
CV%	49.10	24.77

[†] Letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey ($p \leq 0.05$) MS = Murashige y Skoog. BAP = Bencilaminopurina.

de las altas concentraciones de citoquininas sobre la elongación de los brotes axilares y restablecer el crecimiento normal de los mismos (Pérez, 1998).

La variable longitud de brotes reportó diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0.05$). Los tratamientos con citoquininas fueron estadísticamente iguales y mostraron los mejores resultados; en relación al tratamiento sin hormona que presentó valores más bajos con 2.89 cm (Cuadro 2). Los resultados obtenidos en el presente estudio indican claramente que el empleo de los reguladores de crecimiento especialmente el BAP (citoquinina), son necesarios para la proliferación y elongación de brotes. Es ampliamente conocido que una pequeña cantidad de citoquinina puede ser sintetizada por los brotes en crecimiento y que esta es insuficiente para inducir el crecimiento y desarrollo *in vitro* de los brotes y yemas. Por tal razón, más del 85% de los medios de cultivo empleados en la micropropagación incluyen algún suplemento de citoquinina (Pérez, 1998). El tratamiento suplementado con 3 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA fué el que presentó los valores más bajos en la variable vigor de brotes, estadísticamente fueron diferentes entre tratamientos por lo que se atribuye que al tener los explantes mayor número de brotes presentaron mayor necesidad de nutrientes, por tal razón estos brotes fueron menos vigorosos en comparación con los demás tratamientos (Cuadro 2). En el mismo cuadro se observa que los tratamientos con 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIA y 4 mg L⁻¹ BAP + 2 mg L⁻¹ AIA presentan las mejores respuestas correspondiente a la categoría tres, considerada como un vigor alto. En cuanto al coeficiente de variación éste trabajo fue bajo, con 5.76%, lo que da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Cuadro 2. Promedios de número de brotes, longitud de brotes y vigor en el primer subcultivo de la fase de multiplicación de malanga

Tratamientos	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Vigor*
MS (Murashige y Skoog)	1.34 b [†]	2.89 b [†]	2.88 a [†]
MS + 2.0 mg L ⁻¹ BAP + 1.0 mg L ⁻¹ AIA	1.78 ab	4.63 a	3.00 a
MS + 3.0 mg L ⁻¹ BAP + 1.5 mg L ⁻¹ AIA	1.91 a	4.86 a	2.50 b
MS + 4.0 mg L ⁻¹ BAP + 2.0 mg L ⁻¹ AIA	1.53 ab	3.95 a	3.00 a
CV %	20.67	17.15	5.76

[†] Letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey ($p \leq 0.05$)

*Escala 1-3: 1 = Bajo; 2 = Medio; 3 = Alto

En el segundo subcultivo el número de brotes, presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. El tratamiento con 4.0 mg L⁻¹ BAP + 2.0 mg L⁻¹ AIA con un promedio de 2.47 brotes, fue el que mayor número de brotes presentó, pero sin diferencia estadística con respecto a los tratamientos

suplementando con hormona; pero cuando se los comparó con el tratamiento sin hormona si presentaron diferencias significativas a los 30 días de establecidos los tratamientos. El resultado obtenido en este segundo sub cultivo concuerda con Malachy *et al.* (1999), el mismo que al multiplicar explantes

de malanga obtuvo el mejor resultado al adicionar al medio 4 mg L⁻¹ de BAP en condiciones *in vitro*. A medida que aumenta el número de subcultivo hay una tendencia al incremento del número de brotes por explantes y además, puede incrementarse la formación de yemas adventicias (Debergh y Maene, 1981).

La longitud de brotes presentó mejores respuestas ($P \leq 0.05$) cuando se le aplicó 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIA con 3.71 cm; los otros niveles de hormona no presentaron diferencias ($P \leq 0.05$) al ser comparados con el testigo. El balance auxina – citoquinina es determinante en el coeficiente de multiplicación, por lo que al lograr un balance adecuado es posible alcanzar elevadas tasa de proliferación aumentando la efectividad del método de micropropagación (Evans y Bravo, 1985). En la variable vigor, las mejores respuestas las presentaron los tratamientos 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIA y 4 mg L⁻¹ BAP + 2 mg L⁻¹ AIA con promedios de 2.81 y 2.78, respectivamente, siendo el tratamiento sin hormona el que presentó el valor más bajo y estadísticamente diferente ($P \leq 0.05$) a los anteriormente indicados, pero igual al tratamiento MS + 3.0 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA (Cuadro 3).

En el enraizamiento y aclimatación *ex vitro* se utilizaron los explantes provenientes de la fase de multiplicación. El uso de 500 mg kg⁻¹. ANA + AIB permitió que se alcanzara el mayor número de raíces (9.14) por planta. A medida que se aumentó la concentración de auxina disminuyó el número de raíces. La respuesta más baja estuvo en el tratamiento 1500 mg kg⁻¹. ANA + AIB (6.34), siendo este diferente estadísticamente al testigo y a los otros niveles de auxinas (Cuadro 4).

Los brotes jóvenes en desarrollo son una rica fuente de producción de auxinas, esto hace que no sea necesaria la adición de auxinas en algunas especies. Es importante mencionar que al existir este regulador en la planta al adicionarle en diferentes concentraciones presenta un efecto inhibitorio (Pérez, 1998).

En la longitud de raíz el mejor tratamiento correspondió al testigo sin hormonas con una longitud promedio de 6.92 cm, estos resultados concuerdan con Hartmann *et al.* (1990) y Cruz (2001) quienes obtuvieron resultados semejantes cuando no utilizaron sustancias promotoras del enraizamiento. También se notó que los tratamientos que contenían las auxinas obtuvieron una longitud inferior en relación al testigo, el menor promedio lo presentó el tratamiento 1000 mg kg⁻¹. ANA + AIB con 3.82 cm de longitud (Cuadro 3). El rol de las auxinas en la iniciación y crecimiento de las raíces es bien conocido, recomendándose su empleo en la fase de enraizamiento, excepto en aquellas especies donde su empleo no es necesario, limitándose a la utilización en estos casos de medios simples sin ningún regulador de crecimiento (Pérez, 1998).

En cuanto al porcentaje de enraizamiento parece haber tenido su influencia, ya que todas las plantas que sobrevivieron, presentaron raíces, obteniéndose para todos los tratamientos el 100%. Al seleccionar explantes de buena calidad de las vitroplantas que se producen *in vitro*, hará que forme y desarrolle varias raíces que le permita comenzar la absorción de nutrientes al transplantarlos sobre un buen sustrato y convertirse en vitroplantas aclimatadas listas para llevarse al campo, por lo que logramos un excelente porcentaje de enraizamiento. Al referirnos a la variable sobrevivencia, no hubo diferencia estadística entre tratamientos. El coeficiente de variación fue del 8.11 %.

El mejor porcentaje de sobrevivencia se presentó en los tratamientos de 500 mg kg⁻¹. ANA + AIB y 1500 mg kg⁻¹. ANA + AIB, con 80% (Cuadro 4). La fase aclimatación es bien crítica para los explantes ya que si no se proporciona las condiciones óptimas para que el explante desarrolle se tendrá porcentaje altos de pérdidas lo que no sería ventajoso. La utilización de un invernadero y haberle adaptado condiciones favorables para la vitroplanta ayudó a obtener porcentajes superiores del 75% de sobrevivencia considerando también la calidad de los explantes utilizados.

Cuadro 3. Promedios de número de brotes, longitud de brotes y vigor en el segundo subcultivo de la fase de multiplicación de malanga

Tratamientos	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Vigor*
MS (Murashige y Skoog)	1.53 a [†]	2.08 b [†]	2.31b [†]
MS + 2.0 mg L ⁻¹ BAP + 1.0 mg L ⁻¹ AIA	2.38 ab	3.71 a	2.81 a
MS + 3.0 mg L ⁻¹ BAP + 1.5 mg L ⁻¹ AIA	2.31 ab	1.88 b	2.56 ab
MS + 4.0 mg L ⁻¹ BAP + 2.0 mg L ⁻¹ AIA	2.47 a	2.19 b	2.78 a
CV %	29.93	30.40	12.47

[†]Letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey ($p \leq 0.05$)

*Escala 1-3: 1 = Bajo; 2 = Medio; 3 = Alto

Cuadro 4. Promedios de número de raíz, longitud de raíz, porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia en la fase de enraizamiento y aclimatización *ex vitro* de malanga

Tratamientos	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Enraizamiento (%)	Sobrevivencia (%)
Testigo	7.90 ab [†]	6.92 a [†]	100 a [†]	75 a [†]
500 mg L ⁻¹ ANA + AIA	9.14 a	5.90 ab	100 a	80 a
1000 mg L ⁻¹ ANA + AIA	7.12 ab	3.82 c	100 a	75 a
1500 mg L ⁻¹ ANA + AIA	6.34 ab	4.66 bc	100 a	80 a
CV %	14.51	19.12	0	8.11

[†]Letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey ($p \leq 0.05$)
ANA = Acido naftaleno acético. AIB = Acido indol-3 butírico

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que: El establecimiento aséptico de yemas de malanga, el tratamiento con 0.1 mg L⁻¹ de BAP, fue el que presentó los mejores resultados. A mayor concentración de citoquinina (MS + 3 mg L⁻¹ BAP + 1.5 mg L⁻¹ AIA) se obtuvo la tasa más alta de multiplicación con 1.91 brotes por explantes en el primer subcultivo. En enraizamiento, a menor dosis de las auxinas (500 mg kg⁻¹. ANA + AIB), generan mayor número de raíces con promedio de 9.14. En longitud de raíz en explantes de malanga, el tratamiento sin hormona fue el que presentó el mayor valor. Los mejores resultados en el enraizamiento y aclimataciones *ex vitro* de yemas de malanga se obtuvieron en el testigo y concentración más baja de la auxina, sin embargo, a medida que se aumentaba la concentración de dicha hormona, disminuyó el número y longitud de raíces. Se estableció el protocolo de propagación *in vitro* de yemas axilares y ápices caulinares de Malanga (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott).

LITERATURA CITADA

- Barrett, O. 1930. Los cultivos tropicales. La Habana, pp: 471-475.
- CORPEI. 2004. Información de productos. Perfil de malanga en Ecuador. Consultado el 8 de Noviembre del 2004. Disponible en: http://www.ecuadorexporta.org/productos_down/perfil_producto_malanga556.pdf.
- Cruz, N. 2001. Micropropagación clonal *in vitro* de *Tectona grandis* L. (teca). Tesis de grado para optar por el título de Ingeniero Forestal. UTEQ. Quevedo – Ecuador. 30 p.
- Deberg, P. y Maene, J. 1981. A écheme for comercial propagation of ornamental plant by tissue culture. *Sciencia Hort* 14: 335 – 345.
- Evans, D y Bravo J. 1985. Phenotypic and genotypic stability of tissue cultured plants. En: *Tissue Culture as a Plant Production System for Horticultural Crops*. Zimmerman. R. H. (ed): 73 - 91
- Grupta, P. K., Nadgir, A. L., Mascarenhas, A. F. y Jagannthan, V. 1980. tissue culture of forest thees: clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (Teak) by tissue culture. *Plant Science letters*. 17: 259 – 268.
- Hartmann, H. T., Kester, D., Davies, F. 1990. *Plant propagation: principles and practices*. 5 ed. Prendice Hall. Englewood diff. Newyersey. USA. 647 p.
- Malachy, D., Pérez, J., Agramonte, D., Jiménez, F., Ramirez, D., Gutiérrez, O. y Pérez, M. 1999. *Bioteconología vegetal. Tecnología para la micropropagación in vitro de clones de Xanthosoma sagittifolium* (L). Instituto de Bioteconología de las plantas. Ediciones GEO. Santa Clara – Cuba. 182 p.
- Murashige, T. and Skoog. F. 1962. A revied medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. *Plant physiol*. 15: 173 – 197.
- Nadgauda, R. S. 1997. Aplicación de tissue culture in clonal forestry programme. *Abstracts of International Tree Biotheconology Meeting*. India. pp: 4 – 8.
- Pérez, J. 1998. *Propagación y mejora genética de plantas por bioteconología*. Instituto de Bioteconología de las plantas. Ediciones GEO. Santa Clara, Cuba. 391 p.