

## LA PRODUCCIÓN DE “SEMILLA” (*XANTHOSOMA* spp.) COMO MEDIO DE COMBATE DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA MALANGA (DsMV).

Servelio Quintero Fernández, Adolfo Rodríguez Nodals y Arlene Rodríguez Manzano.

*Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). Cuba. E-mail: [squintero@inifat.co.cu](mailto:squintero@inifat.co.cu)*

X Jornada Científica del INIFAT en ocasión del Centenario 29/3-1/4/05.

### RESUMEN

La malanga (*Xanthosoma* spp.) es cultivada en Cuba desde época precolombina. Por sus cualidades alimenticias y propiedades dietéticas es consumida por niños, ancianos y pacientes con trastornos gástricos con muy buenos resultados, lo que ha llevado su cultivo a muchos países de la zona tropical. Por ser una planta de reproducción agámica, el traslado de la “semilla” de un país a otro, ha facilitado la diseminación de enfermedades, entre ellas las virales, lo que propició la diseminación del *Dasheen mosaic potyvirus* (DsMV) a todos los países donde se cultiva esta planta. En Cuba, desde 1979 se produjo una disminución progresiva de los rendimientos y de 15,0 t/ha disminuyó a 0,8 t/ha en 1994 y se identificó al DsMV como la causa fundamental de este deterioro productivo. Este trabajo se realizó con el objetivo de determinar la posible solución. Fue eliminado el virus de la “semilla”, la que fue cultivada en condiciones de producción durante un tiempo. A los cuatro años, algunos de los mejores clones cultivados, se habían reinoculado y perdido hasta el 80% de los rendimientos. Sin embargo, la “semilla” que fue liberada del virus e inoculada con un aislado débil de ese virus, a modo de “vacunación”, disminuyó los rendimientos sólo ligeramente y a los 10 años, todavía mantenía rendimientos aceptables. En varias provincias, el uso de clones locales “vacunados”, ha permitido la recuperación parcial del cultivo. La “semilla” “vacunada” y mantenida en un sistema de producción de “semilla” categorizada, resultó un combate eficaz contra el DsMV y permitirá la recuperación del cultivo.

### THE PRODUCTION OF TAROSEED (*XANTHOSOMA* SPP.) AS HALF COMBATS OF THE VIRUS OF THE MOSAIC (DSMV).

### ABSTRACT

Yautia (*Xanthosoma* spp.) is cultivated in Cuba since Precolonian period. With very good results, it is consumed by boys, old peoples and gastric sick patients because of its nutritive and dietetic properties, so there are cultivated in tropical zone countries. The transportation of “seeds” between all countries where this plant is cultivated has facilitated diseases dissemination, of viruses as Dasheen mosaic virus (DsMV) because of its asexual reproduction. Since 1979, yields progressively diminishes in Cuba from 15,0 t/ha to 0,8 t/ha in 1994, and as main causes was identified DsMV. This virus was eliminated from the “seeds”, and cultivated in production conditions, during a time. Some of the bests cultivated clones, after four years, were inoculated; and the losses of the yield arrived to 80%. Nevertheless, the seed without the virus, and inoculated with e weak strain from this virus, as a “vaccination” mode, yield diminishes only a little, and were acceptable, after 10 years. Partial recuperation of yautia cultivation with local clones “vaccinated” use in several provinces Partial recuperation of the crop has made in several provinces by local clones use. An efficient control against DsMV resulted

“vaccinated” and categorized “seed” production, and it will permit the crop recuperation. The solution of this job is the main objective of this work.

## INTRODUCCIÓN

La malanga (*Xanthosoma* spp.) originaria de los trópicos mesoamericanos, es cultivada en países tropicales de África, Asia, Oceanía, Norte, Centro y Sudamérica, donde representa parte fundamental de la dieta. En Cuba, su cultivo data de la época precolombina, en la que nuestros aborígenes la consumían. En Puerto Rico, la yautía es el cultivo más antiguo, heredado de los arawak. También en los jardines de los aztecas se cultivaba para las ceremonias del templo (Sosa Delgado, 1992).

El valor dietético de la malanga es debido a su riqueza en almidón, sales minerales y proteínas, con bajo nivel de fibras y grasas; además, esta es la única vianda que tiene la valiosa propiedad química de que su digestión se realice en un pH neutro o muy cercano a éste, lo que le confiere una propiedad dietética de un valor indiscutible para niños, ancianos y personas con trastornos digestivos, especialmente úlceras gástricas y otras afecciones similares o propensas a la acidez estomacal. Los gránulos de almidón de la malanga son muy pequeños, por lo que son de muy fácil digestión. Esto hace de la malanga uno de los alimentos más ligeros (Rodríguez Manzano, 2001).

Aunque las malangas han estado entre las plantas más cultivadas; desde la década del 80, se observó una disminución progresiva tanto en la producción mundial como en los rendimientos agrícolas, lo que se hizo más evidente en las estadísticas nacionales que en las regionales. De los grandes productores mundiales, solamente la República Popular China incrementó sus rendimientos de 12,64 t/ha en 1979-81 a 15,67 t/ha en 1993. Los restantes países disminuyeron, incluidos los de mayores rendimientos como Egipto, que de 1991 a 1993 descendió de 35,12 t/ha a 29,64 t/ha.

En Cuba, en 1985 sólo se plantaron 8 200 ha (611 cab.), las que se obtuvieron con 5,36 t/ha de productividad. La producción también bajaba, hasta que en 1990 ya no había plan oficial de producción de malanga y los rendimientos no sobrepasaron las 3,2 t/ha (928 qq/cab.).

Varios aspectos podrían ser causales de la disminución de los rendimientos, entre ellos las enfermedades fungosas, bacterianas y parasitarias (Grullón, 1984). También el suelo, su fertilidad y el riego son determinantes en los rendimientos. Sin embargo, entre los factores más comprometidos, se halla la presencia de enfermedades virales, conocidas en la malanga desde 1970 en EE. UU. y en el Caribe (Zettler *et al.*, 1970, citado por Brunt *et al.* 1997), las cuales se han propagado a gran cantidad de países, debido a la reproducción agámica de la planta y a la falta de un sistema de diagnóstico del virus, adecuado para la “semilla” de malanga. La disminución de los rendimientos debió estar asociada al incremento de un factor negativo que pudo haber sido la presencia del DsMV en la “semilla”. En Cuba, en 13 años (de 1978 a 1990) disminuyó de 15,3 t/ha (4 474 qq/cab.) a 3,2 t/ha (928 qq/cab.) o sea, 0,93 t/ha por año.

Algunos virus han sido identificados en los países donde se cultivan los principales géneros de malanga, (*Colocasia Bobone Disease Virus*, *Taro Bacilliform Virus*). Pero el más importante de todos es el *Dasheen mosaic potyvirus* (DsMV). Sus alternancias sindromáticas, permiten la propagación del DsMV de forma “silenciosa”, mediante la “semilla”, donde se incrementa la concentración del virus, aparecen los síntomas agudos y finalmente son afectados los rendimientos. Fue necesario dar solución a la drástica disminución de los rendimientos de la malanga (Castro Ruz, 1986, 1997).

El deterioro productivo de la malanga en Cuba, se relacionaría con la presencia de virosis que afectan la calidad de la “semilla”, cuya solución se sustenta en el control del agente causal y la producción de “semilla” categorizada, con alta calidad.

La “semilla” de la malanga es de gran importancia para lograr altos rendimientos agrícolas. En los grupos blanco, crema y morado, el cormo es usado para “semilla” o alimentación animal. Los cormelos se usan para consumo humano. En el grupo amarillo y en la malanga isleña (*Colocasia esculenta*), se consumen los cormos y se usan los cormelos para “semilla” (Ramos *et al.*, 1986). Los cormelos no comerciales con 80g, representan buenas “semillas”.

La malanga está entre las plantas de menor índice de propagación (Medero *et al.*, 1997). El tamaño de la “semilla” no es lo más importante, mientras que su calidad es determinante (MINAG, 1988b). Las “semillas” de 50g, 150g, 325g, 750g, y 2500g, produjeron cormelos comerciales de 5 X 11-18 cm, 200-250g, sin diferencias significativas (Soto y Arze, 1986).

Sin embargo, la certificación de semilla, no es un tema priorizado en algunos países, especialmente relacionada con la “semilla” agámica. Para mover “semillas” agámicas, existen manuales, procedimientos y normas que no siempre se cumplen.

Desde 1970, se conoce la presencia de un virus en *Colocasia* y otras Aráceas en la Florida (Zettler *et al.*, 1970, citado por Brunt *et al.*, 1997) mientras tanto, Alconero y Zettler (1971, citado por Brunt *et al.*, 1997) también encontraban un virus en Puerto Rico, en *Colocasia* y *Xanthosoma*. Hartman y Zettler (1972) citado por Büchen-Osmond (1998c) informaron en la Florida, un virus que denominaron *Dasheen mosaic virus* (DMV). Posteriormente, este virus fue encontrado en las Islas Salomón y en Trinidad (Kenten y Woods, 1973, citado por Büchen-Osmond, 1998a). Debrot y Ordosgoitti (1974, citado por Brunt *et al.*, 1997) lo encontraban en Venezuela; en Japón (Tooyama, 1975), en Egipto (Abo El-Nil y Zettler, 1976), éstos citados por Brunt *et al.*, 1997). Apareció en las Islas Cook, Papua Nueva Guinea e Islas Salomón (Gollifer *et al.*, 1977, citado por Brunt *et al.*, 1997). En 1979, confirmaban la presencia del virus en Papua Nueva Guinea e Islas Salomón en *Colocasia* (Shaw *et al.*, 1979, citado por Büchen-Osmond, 1998a). También fue identificado el DsMV en Camerún (Girald *et al.*, 1980) y en las Islas Gilbert (Shanmuganathan, 1980, citado por Büchen-Osmond, 1998c) y en la Polinesia Francesa (Jackson, 1982). Además, en Costa Rica fue hallado por Ramírez (1983, 1985). Y en Dinamarca, en 1985; en Australia, en 1986; y en China en 1987 (Zettler *et al.*, 1987; Brunt *et al.*, 1997). En Cuba era identificado el DsMV en 1987 (Quintero, 1987, 1989). En Holanda, fue informado en 1988 y en Italia y en Hawaii en 1994. Como se observa, su distribución no se detiene y se considera mundial (Brunt *et al.*, 1997), por lo que mover “semilla” de cualquier país, representa un alto riesgo de introducir alguno de los más de cuatro aislados que se conocen de este virus, casi todos de importancia. Por esta razón, la distribución de las virosis de la malanga no ha seguido un esquema epifítico, o sea, no ha pasado de un país a otro por colindancia, sino por introducción de germoplasma contaminado.

El DsMV tiene vectores no persistentes, reconocidos, como *Myzus persicae* (Sulzer) y *Aphis craccivora* Kock. (Abo El-Nil *et al.*, 1977, citado por Brunt *et al.*, 1997). *Aphis gossypii* Glov., y *Tarophagus proserpina* (Kirk.).

El cultivo *in vitro* ha sido utilizado para la propagación clonal como combate contra los virus, en plantas de propagación agámica (Zettler y Hartman, 1987). Algunos autores cultivaron *in vitro Colocasia* (Abo El-Nil y Zettler, 1976, citado por Medero *et al.*, 1997) y de *Xanthosoma* (García *et al.*, 1987, 1989, citado por Medero *et al.*, 1997). Del cultivo *in vitro*, surgió otro concepto de combate de virus, basado en las investigaciones de Limmaset y Cornuet en 1949, sobre el cultivo de meristemas de plantas virosas. Hartman (1974, citado por Brunt *et al.*, 1997) eliminó el DsMV en *Caladium*, *Colocasia* y *Xanthosoma* mediante cultivo de ápices.

Quak en 1977 anunció el cultivo de meristemas como metodología general contra virus de plantas. Strauss y Arditti (1980) obtuvieron plantas de *Xanthosoma caracu*, libres del DsMV, con cultivo de meristemas, aunque el cultivo de meristemas no eliminó todos los virus del boniato (Love *et al.*, 1987).

La termoterapia ha sido usada por muchos autores contra los virus, aunque algunos no son erradicados por termoterapia, ni por cultivo de meristemas. Con ambos medios, eliminaron al PLRV al 100%. Kartha (1984) recomienda la combinación de termoterapia y el cultivo de meristemas para combatir los virus. La alternancia de temperatura, disminuyó los síntomas del TMV, pero no lo eliminó. Sin embargo, los mejores resultados se han logrado con métodos combinados (Cortegaza *et al.*, 2001).

Poco explotada ha sido la protección cruzada, la inmunidad adquirida (McKinney, 1926, citado por McIntyre *et al.*, 1981; Salaman, 1937), el antagonismo (McKinney, 1941), la preinmunidad (Quanjer, 1942), la interferencia (Price, 1964) o la resistencia sistémica múltiple (McIntyre *et al.*, 1981). En la práctica resulta como un tipo de “vacunación”, aunque no se basa exactamente en el mismo principio. Para ello han usado aislados débiles contra los virulentos, (Gonsálves y Garnsey, 1989). Su uso presupone que se disponga de un aislado benigno y que se transmita de alguna forma.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Eliminación del DsMV de la “Semilla”

Se tomaron plantas plus como material de partida, de *X. sagittifolium*, de los clones ‘Viequera’ y ‘Macal Sport’; y de *X. nigrum*, de los clones ‘México 1’, ‘México 8’ e ‘INIVIT-84’ y se realizó el siguiente:

Tratamiento: Fracciones de 1 cm<sup>3</sup> de los clones en estudio: 1) Se mantuvieron en 50° C desde 2-8 h en hidrotérmodoterapia. 2) En agua helada durante 1 hora. 3) Se cultivaron en microzeopónico (MZ). 4) Y en condiciones de termoterapia en 39° C ± 1 y con 200 luxes durante 10 días o más y 5) Después, los meristemas fueron cultivados *in vitro*. Las yemas se lavaron con agua y se colocaron en Cerezán M (Bayer) a 1: 10 000 i.a. durante siete minutos. Se lavaron tres veces con detergente al 1% y se enjuagaron tres veces con agua, se mantuvieron en alcohol al 70%•1 min<sup>-1</sup> y pasaron a hipoclorito de sodio comercial al 2,5%•10 min<sup>-1</sup>, con agitaciones a intervalos y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Se removieron las hojas envolventes, la de reserva y las subsiguientes, hasta descubrir el domo apical, el que fue seccionado con una longitud entre 0,3 y 0,5 mm, con instrumental de disección (bisturí, agujas, pinzas y microscopio estereoscópico) en flujo laminar de aire. Los meristemas fueron cultivados en un medio líquido de Murashige y Skoog (MS) (1962, citado por Medero *et al.*, 1997), suplementado con 6-BAP 0,1 mg•L<sup>-1</sup> y sacarosa 30 g•L<sup>-1</sup>. Las sales del medio MS sólo se usaron al 60% en la fase de iniciación; el medio fue ajustado a pH 5,5 y esterilizado en autoclave a 121° C y 1,1 At•15 min<sup>-1</sup>. Los meristemas se mantuvieron en una cámara de cultivo con 1 000 luxes, a 26° C ± 1, con un fotoperíodo de 16 horas. A los 20-30 días se pasaron a un medio fresco.

Las vitroplantas que se obtuvieron de los meristemas a los 45-60 días fueron analizadas por UM-ELISA (DAS), en un SUMA con el diagnosticador preparado contra el DsMV (Quintero *et al.*, 1995), para determinar la presencia del virus. Las plantas que resultaron negativas, fueron usadas como “semilla” original libre del DsMV y pasadas a un medio de proliferación, compuesto por MS suplementado con 6-BAP 2 mg•L<sup>-1</sup> + AIA 0,6 mg•L<sup>-1</sup> y sacarosa 30 g•L<sup>-1</sup>. El pH fue ajustado a 5,7 y se añadió agar Técnico No. 3 al 0,6%. Se dosificó en frascos de 400 mL con 25 mL de medio y se esterilizó. Después, se realizó la disección de las yemas, las que se cultivaron de 6-7 por frasco,

durante 21-25 días. Las medias fueron comparadas estadísticamente por la dósima de Duncan al nivel de 5% de significación.

La fase de enraizamiento se realizó en medio MS sólo con el 50% de las sales, sin reguladores del crecimiento ni vitaminas, suplementado con sacarosa  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Las vitroplantas fueron cultivadas aisladas de insectos, durante dos meses, para realizar la prueba de diagnóstico del virus del mosaico de la malanga.

Con el objetivo de verificar los resultados negativos obtenidos, se cultivaron 15 vitroplantas del clon 'Viequera', libres del DsMV, durante 12 meses en aislador, en suelo esterilizado con formalina al 4%, que contenía 20% de arena silíceo, 30% de cachaza y 50% de suelo Pardo con Carbonato. La distancia de plantación fue de 28 x 50 cm, con observación semanal durante 12 meses, para determinar la posible aparición de síntomas virales. Durante este cultivo, se mantuvo un tratamiento fitosanitario semanal contra áfidos y ácaros, con riego localizado, para mantener 90% o más de capacidad de campo. La producción fue evaluada por plantas y las muestras integradas en cinco grupos (1-5) con tres réplicas, cuyas medias fueron comparadas con los rendimientos de un número similar de plantas testigos (6-10) que procedían de "semilla" virosa de la producción, sin tratar. Las medias fueron estadísticamente comparadas por la dósima de Duncan, al nivel de 5%.

### **Recuperación del Potencial Productivo de Clones Comerciales de Malanga (*Xanthosoma* spp.)**

Se utilizó "semilla" original, convencional, de malanga certificada libre del DsMV, de los clones en estudio, la que fue picada en fragmentos de 150 g, desinfectada con Dicofol y Zineb, oreada 24 h y después fue plantada.

La plantación se realizó en Santiago de las Vegas, en julio de 1995, en un suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994), con pH 6,5, al cual se le añadieron 60 t/ha de materia orgánica y se le suplementó nitrógeno, fósforo y potasio para lograr: N 100 Kg/ha;  $\text{P}_2\text{O}_5$  40 Kg/ha y  $\text{K}_2\text{O}$  130 Kg/ha. Se cultivaron 20 plantas de cada clon, en desarrollo libre. El riego cada siete días aseguró que el suelo dispusiera de humedad suficiente, durante el cultivo. A los 12 meses, se evaluó el peso de la producción de cormelos comerciales. Las medias fueron evaluadas estadísticamente mediante la prueba de Newman-Keuls al nivel de 5%.

### **Reinoculación del Virus del Mosaico de la Malanga (DsMV): Deterioro Productivo de Clones Comerciales**

Se utilizaron los clones cultivados que fueron previamente liberados del DsMV, para determinar la velocidad de la reinoculación del DsMV en la malanga. Para ello se utilizó "semilla" original, convencional, certificada libre del DsMV por UM-ELISA (DAS) en el SUMA (Quintero *et al.*, 1995), multiplicada *in vitro* según fue descrito.

Para determinar el efecto de la distancia del fondo provocativo, así como sus condiciones, se tomaron los clones que se cultivaban en cada zona, pero en todos los casos fue incluido el clon 'Viequera' y se realizaron los siguientes experimentos:

A) (En el centro del país, Santo Domingo). Fueron plantadas, en mayo de 1994, en suelo Pardo con Carbonato (Hernández, *et al.*, 1994), con "semilla" del clon 'Viequera' libre de virus, dentro de un campo de 1 ha, con el 100% de las plantas virosas, con síntomas del DsMV-S, como fondo provocativo, a 2 m al norte, sur, este y oeste de las parcelas.

B) (En el occidente, Santiago de las Vegas). En suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994), fue plantada en mayo de 1996, la "semilla" libre de virus del clon 'Viequera', en el INIFAT. A 35 m de distancia, al sudoeste, se plantó un fondo

provocativo, compuesto por una parcela que contenía cuatro surcos de 18 plantas con “semilla” procedente de los clones ‘México 1’, ‘México 8’, ‘Morada’ y ‘Amarilla Especial’, con el DsMV-S al 100% y síntomas permanentes en todas las hojas.

C) (En el occidente, Santiago de las Vegas). En suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994), se plantaron en mayo de 1996, en el INIFAT, en un diseño de bloques al azar, los clones libres de virus: ‘Macal Sport’, ‘México 1’, ‘México 8’, ‘INIVIT-84’ y ‘Viequera’. El fondo provocativo fue ubicado al este, a 10 m de las parcelas experimentales, con plantas intermedias para la interferencia del flujo del aire. Este fondo estaba integrado por seis parcelas similares, con el 25% de las plantas portadoras del DsMV-S.

D) (En el occidente, Santiago de las Vegas). Se plantaron, en suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994, 1997), los clones ‘Viequera’ y ‘Macal Sport’, en mayo de 1996, en el INIFAT, con fondo provocativo a 1 200 m de distancia, al norte, sin interferencia del flujo del aire.

E) (En la región central, Bermejales, Santo Domingo). Fueron plantadas, 5 000 vitroplantas de ‘Viequera’, en suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994), en enero de 1995, a más de tres Km. de las plantaciones más cercanas.

F) (En la región oriental, Guantánamo). Se plantaron en suelo Aluvial Turboso (Hernández, *et al.*, 1994, 1997), 5 000 vitroplantas del clon ‘Viequera’, en abril de 1997, geográficamente aisladas, a cinco Km. de las plantaciones de malanga más cercanas.

G) (En la región oriental, El Salvador, Guantánamo). Fueron plantadas en suelo Pardo con Carbonato (Hernández, *et al.*, 1994), 30 000 vitroplantas clon ‘Viequera’, en abril de 1998, geográficamente aisladas, a más de cinco Km. de las plantaciones de malanga.

Como testigo, se mantuvo material libre del DsMV, en condiciones aisladas contra insectos. Los experimentos A, B, C, y D fueron plantados en parcelas de cuatro surcos con 18 plantas, y tres réplicas. En el experimento C se realizó un diseño de bloques al azar. Todos los experimentos se cultivaron según el Instructivo Técnico del cultivo (MINAG, 1988 a), sin protección fitosanitaria. Se evaluó la aparición de síntomas a los 12 meses. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan al nivel de 5%.

### **Preinoculación de la Malanga con un Aislado Débil del *Dasheen Mosaic Potyvirus* (DsMV)**

Se realizaron 14 colectas de plantas en las zonas del país donde históricamente se ha cultivado malanga (*Xanthosoma* spp.) y malanga isleña (*C. esculenta*), en llanos y montañas, donde se cultivaban los clones comerciales en los últimos años, además de los autóctonos, en todas las provincias. Las 45 muestras colectadas fueron procesadas en los laboratorios del INIFAT, para su identificación (Quintero, 1989; Green, 1991).

Se diferenciaron dos grupos de síntomas o aislados. Uno, el considerado previamente como DsMV-S. El otro, que permanecía típicamente el mayor tiempo en estado asintomático, que fue considerado como DsMV-B. Este material fue mantenido en condiciones controladas de insectos y fue reinoculado con el DsMV-S en todas las plantas que habían sido inoculadas previamente con el aislado DsMV-B. La evaluación se realizó durante seis meses.

Con “semilla” inoculada con ambos aislados, se realizaron los tratamientos siguientes:

Tratamiento I) Para determinar el deterioro productivo que causa el aislado DsMV-S, en condiciones de campo; y por la importancia de los clones comerciales ‘Macal Sport’, ‘México 1’, ‘México 8’, ‘INIVIT-84’ y ‘Viequera’, la “semilla” de estos clones previamente inoculada con este aislado, fue cultivada durante cuatro años (1996-1999), en Santiago

de las Vegas, en parcelas de cuatro surcos con 18 plantas y tres réplicas, en un diseño de bloques al azar, en suelo Ferralítico Rojo Típico (Hernández, *et al.*, 1994, 1997).

Tratamiento II) Se cultivó la “semilla” de tres clones autóctonos promisorios: ‘BM’, ‘MC’ y ‘BVS’, previamente inoculada con el DsMV-B. Los tratamientos I y II fueron plantados contiguos para permitir la interacción entre los dos aislados, de forma natural mediante vectores. Las condiciones experimentales en ambos experimentos fueron las mismas. Aunque el tiempo de ejecución de ambos experimentos fue de cuatro años, el tiempo de evaluación de los clones del Tratamiento II, se prolongó a 10 años, pues se incluyó la evaluación participativa de productores individuales, de varias zonas para evaluar el efecto de “tiempo prolongado” y su significado negativo o positivo en el futuro.

En ambos experimentos se aplicó la fitotecnia establecida para el cultivo (MINAG, 1988a, 1998) sin protección fitosanitaria; se evaluó la cantidad de plantas que presentaba síntomas severos, al concluir los cuatro años y el porcentaje de plantas que produjo menos de 460g. La productividad por clones, fue estimada igualmente mediante experimentos participativos, donde se cultiva la malanga con las fitotecnias locales, tanto con riego como de secano. Las medias fueron comparadas por la dósima de Duncan con un nivel de 5%, con los datos transformados.

### **Producción de “Semilla” de Malanga a Escala Comercial, por Métodos no Convencionales**

La micropropagación de la malanga utilizada en estos experimentos, se realizó en un Módulo de 40 000 Vitroplantas. Se inició un esquema con 250 vitroplantas, con un índice reproductivo mínimo de 5 cada 25 días (promedio). Se Aplicó el método establecido (Quintero *et al.*, en preparación). Las vitroplantas pueden ser libres de virus o preinoculadas con el aislado DsMV-B. Con este nivel de producción, a los 100 días de iniciada la producción, se hizo la primera entrega planificada de 20 000 vitroplantas y a los 125 días, se estabilizó un plan de entregas de 32 000 vitroplantas cada 25 días, suficiente para plantar una ha de malanga para “semilla”.

### **Esquema para la Producción de “Semilla” Categorizada, Convencional, de Malanga**

La “semilla” original fue producida en la biofábrica de “Sabaneta” (AGROFAR) Guantánamo, mediante la aplicación de la tecnología establecida de cultivo *in vitro* (Quintero *et al.*, en preparación). Las vitroplantas fueron entregadas a la Empresa Provincial de Semilla de Guantánamo, para su aclimatación en el endurecedor, donde se mantuvieron entre 45 y 60 días.

#### **Fincas Especiales**

Las vitroplantas (“semilla” original), fueron plantadas en 1997 en Guantánamo, en Fincas Especiales, para producir la “semilla” básica, 1 ha por municipio o más. Estas Fincas debían cumplir un grupo de requisitos y el instructivo técnico del cultivo (MINAG, 1988a). Como testigo se plantó ½ ha con “semilla” original, a 800 m de una plantación comercial de malanga con “semilla” no certificada libre de virus.

#### **Fincas Municipales de Semilla**

La “semilla” básica, integrada por la totalidad de cormos y cormelos, se entregó a las Fincas Municipales de Semilla el 2do. año, para plantar 14 ha, donde se produce la “semilla” registrada (suficiente para 112 ha) y cormelos para el consumo. Estas fincas aplicaron el instructivo técnico del cultivo (MINAG, 1988a, 1998) y un grupo de requisitos. Se evaluó el rendimiento y la presencia de virus.

#### **Fincas Autorizadas de Semilla**

La “semilla” registrada (cormos solamente), producida en las Fincas Municipales de Semilla, o en áreas con estas funciones, fue entregada el 3er. año, a las Fincas Autorizadas para producir “semilla” certificada y cormelos para el consumo. Aquí aplicaron el instructivo técnico del cultivo (MINAG, 1988a, 1998) y un grupo de requisitos. La “semilla” certificada producida en estas fincas, puede ser entregada libremente por ellas a los productores, la que podría alcanzar para plantar 672 ha de malanga o más. Las áreas productoras de “semilla” son chequeadas y certificadas por el Sistema Nacional de Certificación de Semilla (SNCS) del MINAG.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Eliminación del DsMV de la “Semilla”

El 100% de las yemas tratadas, resultó libre del DsMV (Tabla 1) al ser analizado por UM-ELISA (DAS), en el SUMA. Estas yemas de 1 cm<sup>3</sup>, fueron tratadas con hidrotermoterapia en temperatura de 50° C durante 4 h, con choque hipotérmico durante al menos una hora, y cultivadas en el microzeopónico, donde recibió una termoterapia de 39° C ± 1 durante 10 días o más, con iluminación de 200 luxes, cuyo meristema fue cultivado con dimensiones entre 0,3 y 0,5 mm. Esta “semilla” mantenida por más de 10 años en aislador contra insectos, permanece libre del DsMV.

**Tabla 1. Tratamiento a yemas de 1 cm<sup>3</sup> del clon ‘Viequera’ con hidrotermoterapia, choque hipotérmico, microzeopónico, termoterapia y cultivo de meristemas, analizadas por UM-ELISA (DAS), mediante un SUMA<sup>1)</sup>.**

| Muestras | Lecturas                | T e s t i g o s |          | Observaciones        |
|----------|-------------------------|-----------------|----------|----------------------|
|          |                         | ( - )           | ( + )    |                      |
| 1        | 7,71 a <sup>2)</sup>    | 7,35 a          | 128,68 d | Tratamiento completo |
| 2        | 7,79 a <sup>2)</sup>    | -               | -        | Tratamiento completo |
| 3        | 7,99 a <sup>2)</sup>    | -               | -        | Tratamiento completo |
| 4        | 8,00 a <sup>2)</sup>    | -               | -        | Tratamiento completo |
| 5        | 8,06 a <sup>2)</sup>    | -               | -        | Tratamiento completo |
| 6        | 8,93 a <sup>2)</sup>    | -               | -        | Tratamiento completo |
| 7        | 10,67 ab <sup>2)</sup>  | -               | -        | Tratamiento completo |
| 8        | 11,00 ab <sup>2)</sup>  | -               | -        | Tratamiento completo |
| 9        | 12,41 abc <sup>2)</sup> | -               | -        | Tratamiento completo |
| 10       | 12,80 abc <sup>2)</sup> | -               | -        | Tratamiento completo |
| ESx (±)  | 1,9                     |                 |          |                      |
| Cv (%)   | 1,2                     |                 |          |                      |

1) El valor del PBS fue de 10,12. La dilución de trabajo del conjugado fue de 1:800. La dilución de la IgG fue de 1:800. La dilución del Ag fue de 1:5.

2) Muestras de vitroplantas consideradas libres del DsMV.

**Tabla 2. Rendimiento de las primeras 15 plantas saneadas del clon 'Viequera', después de aplicado el tratamiento completo para la eliminación del DsMV, comparado con el de plantas sin tratar (Testigo 6-10).**

| MUESTRA        | RENDIMIENTO PROMEDIO <sup>1)</sup> | Número de Cormelos | OBSERVACIONES                  |
|----------------|------------------------------------|--------------------|--------------------------------|
|                | (en g)                             |                    |                                |
| 1              | 1 808                              | 18                 | "Semilla" libre del DMV        |
| 2              | 2 175                              | 22                 | "Semilla" libre del DMV        |
| 3              | 2 183                              | 21                 | "Semilla" libre del DMV        |
| 4              | 2 452                              | 26                 | "Semilla" libre del DMV        |
| 5              | 2 657                              | 29                 | "Semilla" libre del DMV        |
| X              | <b>2 255,5 a</b>                   | <b>23,2 a</b>      | <b>Promedio libre de virus</b> |
| 6              | 199                                | 2                  | "Semilla" muy virosa           |
| 7              | 204                                | 3                  | "Semilla" muy virosa           |
| 8              | 210                                | 4                  | "Semilla" muy virosa           |
| 9              | 200                                | 2                  | "Semilla" muy virosa           |
| 10             | 203                                | 3                  | "Semilla" muy virosa           |
| X              | <b>203,5 b</b>                     | <b>2,8 b</b>       | <b>Promedio viroso</b>         |
| <b>ESx (±)</b> | <b>287,0</b>                       | <b>3,9</b>         |                                |
| <b>CV (%)</b>  | <b>8,1</b>                         | <b>6,5</b>         |                                |

<sup>1)</sup> Rendimiento promedio de tres réplicas (Muestras 1-5 y 6-10).

**Nota:** Cifras con letras en común, en la misma columna, no difieren significativa para  $P \leq 0,05$ , según la dósima de Duncan.

La comparación del rendimiento de las plantas libres de virus (Tabla 2), (muestras 1 a 5), con el de las plantas procedentes de "semilla" virosa (muestras testigo, 6 a 10) cultivadas durante 12 meses, dio diferencias altamente significativas, en la cantidad de cormelos que produjeron: Las libres del DsMV 23,2, las plantas virosas (testigo) 2,8. Los procedimientos combinados han sido aplicados con éxito para combatir los virus: La termoterapia y el cultivo de meristemas en plátano; la termoterapia, tratamientos con baja temperatura y cultivo de meristemas apicales en trébol; y temperaturas bajas y cultivo de meristemas en papa fueron útiles.

### **Recuperación del Potencial Productivo de Clones Comerciales de Malanga (*Xanthosoma* spp.)**

El rendimiento potencial, tanto en cantidad de cormelos comerciales, como en peso por planta libre del DsMV obtenido en este trabajo, fue diferente a las cifras aceptadas para los clones en estudio, determinadas con "semilla" tradicional no certificada libre de virus (Rodríguez Nodals, 1978) (Tabla 3). Al lograr la recuperación de los rendimientos potenciales de todos los clones estudiados, se pusieron de manifiesto nuevos índices de rendimientos potenciales, cuando el virus no está presente. De este modo, quedó demostrada la presencia del DsMV, como una de las causas fundamentales del deterioro productivo de la malanga.

Quedó demostrada la recuperación de los rendimientos de la malanga, con la eliminación del DsMV de la "semilla" (Tabla 3). El clon 'Macal Sport', al ser liberado del DsMV, se presentó como una promesa con 80 t/ha como rendimiento potencial. Sin embargo, según las estadísticas nacionales (MINAG, 1997) desde 1966 hasta 1997, en Cuba no han habido rendimientos de malanga por encima de 15,3 t/ha (4474 qq/cab) como producción real (promedio nacional de 1978).

**Tabla 3. Índices de producción de clones comerciales de malanga (*Xanthosoma spp.*) determinados con “semilla” virosa, comparados con los rendimientos potenciales determinados con “semilla” libre de virus, en condiciones de campo.**

| Clon de malanga | Rendimiento potencial (t/ha) |                      | Potencial productivo <sup>1)</sup> (t/ha) | Rendimiento real <sup>1)</sup> (t/ha) |
|-----------------|------------------------------|----------------------|---|---------------------------------------|
|                 | Libre de virus               | Viroso <sup>1)</sup> |   |                                       |
| 'Macal Sport'   | 80 a                         | 18                   | 16  | 15,0                                  |
| 'INIVIT-84'     | 54 b                         | -                    | -   | -                                     |
| 'México 1'      | 50 cd                        | 35                   | 20  | 11,3                                  |
| 'México 8'      | 49 de                        | 35                   | 20  | 11,3                                  |
| 'Viequera'      | 48 e                         | 26                   | 15  | 8,0                                   |
| Esx (±)         | 12,1                         |                      |   |                                       |
| CV (%)          | 4,5                          |                      |   |                                       |

<sup>1)</sup> Determinado por Rodríguez Nodals, (1978).

**Nota:** Cifras que comparte letras en común, no difieren significativamente para  $P \leq 0,05$  (Prueba de Neuman-Keuls).

### **Reinoculación del Virus del Mosaico de la Malanga (DsMV): Deterioro Productivo de clones Comerciales**

Se demostró la importancia de la presencia de un fondo provocativo del DsMV para su reinoculación en el campo. Así, la distancia del foco a la plantación, en función del tiempo, fue determinante para la reinoculación del DsMV, y para la cantidad de plantas reinoculadas (tabla 4). En el experimento A, a los cinco meses ya había 52,8% de plantas con síntomas y a los 12 meses, el 100% estaba reinoculado con el DsMV. Este experimento mostró la gran actividad de los vectores de este virus, fundamentalmente *Aphidae* (Gollifer *et al.*, 1977, citado por Brunt *et al.*, 1997). El experimento B, a los 12 meses mostraba 29,2% de plantas reinoculadas, el C 75 % y el D, el clon 'Viequera' sólo presentaba 1,8%. Se observa el poco efecto del fondo provocativo ubicado a 1200 m. En los experimentos E, F y G al concluir el tiempo, ninguna planta presentó síntomas de virus, ni su presencia, comprobado en análisis por UM-ELISA (DAS) mediante el SUMA. Así quedó demostrada la importancia del aislamiento geográfico para impedir la reinoculación del DsMV en áreas de campo, o sea a más de 3000 m, no hubo reinoculación. En cambio la parcela testigo a 800 m fue reinoculada al 1,2%. Las plantas libres del DsMV, mantenidas como testigo, aisladas de insectos, después de 10 años, continúan sin síntomas virales y con resultados negativos, en los análisis realizados.

**Tabla 4) Reinoculación del clon 'Viequera' con el DsMV, en condiciones de campo, en función de la distancia al fondo provocativo y del tiempo.**

| Experimento | Distancia al fondo (m) | Ubicación del fondo | Flujo del aire | Reinoculación 12 meses (%) |
|-------------|------------------------|---------------------|----------------|----------------------------|
| A           | 2                      | Alrededor           | Libre          | 100 a                      |
| B           | 35                     | Sudoeste            | Semilibre      | 29,2 c                     |
| C           | 10                     | Este                | Interferido    | 75,0 b                     |
| D           | 1 200                  | Norte               | Libre          | 1,8 d                      |
| E           | 3 000                  | Este                | Con arbustos   | (0)                        |
| F           | 5 000                  | Nordeste            | Con arbustos   | (0)                        |
| G           | >5 000                 | Ausente             | Con arbustos   | (0)                        |
| ESx (±)     |                        |                     |                | 38,6                       |
| CV (%)      |                        |                     |                | 8,1                        |

**Nota:** Cifras que comparten letras en común, no difieren significativamente para  $P \leq 0,05$ . Las medias fueron comparadas mediante la dósima de Duncan.

### **Preinoculación de la Malanga con un Aislado Débil del *Dasheen Mosaic Potyvirus* (DsMV)**

En prospecciones realizadas en las zonas cultivadoras de malanga y malanga isleña, fueron seleccionados 30 clones de interés por sus rendimientos. Se encontraron los clones comerciales: 'Viequera', 'Amarilla Especial', 'Amarilla Trinidad' y 'Macal Sport' (*X. sagittifolium*); también, 'México 1', 'México 8' e 'INIVIT-84' (*X. nigrum*). Además, otros 22 clones autóctonos, con nombres regionales. También fueron colectados los clones de malanga isleña (*C. esculenta*): 'Camerún 14', 'Morada Zanja', 'Llanadas', 'Mayajigua' y 'Rosada Habana'.

El Tratamiento I, inoculado con el aislado DsMV-S, desde el primer año comenzó a mostrar el deterioro productivo. Al cuarto año ya la diferencia entre clones, del porcentaje de plantas con síntomas severos, fue altamente significativo. El porcentaje de plantas sin síntomas severos, mantuvo su productividad entre los límites productivos del clon. El Tratamiento II, inmunizado con el aislado DsMV-B, mostró un comportamiento particular. Los tres clones no mostraron grandes diferencias entre ellos. Además, el porcentaje de plantas deterioradas productivamente, fue significativamente menor, si las comparáramos con las medias del Tratamiento I, pues el clon que mayor cantidad de plantas mostró deterioro productivo fue el 'BM' sólo con 16%; seguido de 'MC' con 15%, y 'BVS' con 13%. Estos valores fueron corroborados en experimentos participativos con cultivadores individuales de varias zonas de occidente y centro del país, donde el tiempo se llevó a 10 años.

### **Producción de "Semilla" de Malanga a Escala Comercial, por Métodos no Convencionales**

El método de producción de vitroplantas utilizado, permitió el suministro necesario de vitroplantas para producir la "semilla" planificada. Al producir la "semilla" convencional, cumplió todos los parámetros de calidad establecidos.

### **Esquema para la Producción de "Semilla" Categorizada, Convencional, de Malanga**

#### **Fincas Especiales**

Las áreas plantadas a cinco Km. o más de las plantaciones comerciales de malanga, permanecieron libres de virus. Sin embargo, al concluir el primer año de cultivo, la parcela testigo presentaba 0,2% de plantas virosas. Quedó demostrado que el DsMV es capaz de ser reinoculado en las plantas libres de virus, cuando el fondo provocativo se halla a poca distancia (800 m en este caso). Se demostró por primera vez que si la "semilla" original se halla libre del virus al 100%, el DsMV no se reinocula, en condiciones geográficamente aisladas, sin la presencia de un foco de contaminación. El rendimiento aquí fue de 14,6:1 (básica:original).

#### **Fincas Municipales de Semilla**

Durante las evaluaciones, no se detectó la presencia de virus en las plantaciones de malanga, con los métodos de diagnóstico usados en este trabajo. En ningún municipio se plantó malanga para "semilla" en las cercanías de los asentamientos poblacionales. Varias especies de plantas ornamentales *Araceae*, son reservorios naturales del DsMV

(Brunt *et al.*, 1997) y representan un riesgo para la reinoculación de la “semilla” libre del virus. El rendimiento de “semilla” fue de 8:1 (registrada:básica),

#### **Fincas Autorizadas de Semilla**

El esquema que se aplicó, permite la participación de los cultivadores particulares de malanga, como Fincas Autorizadas para la producción de semilla, los que con su experiencia, interés y sabiduría, cumplen el esquema de producción de “semilla”, y enriquecen los resultados. En estas fincas se obtuvo una producción promedio de “semilla”, de 6:1 (certificada:registrada).

Este esquema de producción de “semilla” de malanga es cíclico, pues se repite en el tiempo; abierto, pues los elementos no se repiten, y breve, por requerir solamente tres años, por lo que la “semilla” mantiene su vigor hasta llegar a la producción.

Con este nuevo y ágil esquema para la producción de “semilla” categorizada y convencional de malanga, se integran todos los resultados obtenidos en este trabajo.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

- BRUNT, A.A.; K. CRABTREE, M.J. DALLWITZ, A.J. GIBBS, L. WATSON, AND E.J. ZURCHER (Eds.) (1996 onwards).** Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 16<sup>th</sup> January 1997. URL: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>, 1997.
- BÜCHEN-OSMOND, CORNELIA.** 1998a. *Colocasia bobone disease virus*. Research School of Biol. Sciences <http://life.anu.edu.au/viruses/ICTVdB/62up0012.htm>.,
- BÜCHEN-OSMOND, CORNELIA.** 1998b. *Taro bacilliform virus*. Research School of Biol. Sciences <http://life.anu.edu.au/viruses/ICTVdB/0701t003.htm>.,
- BÜCHEN-OSMOND, CORNELIA.** 1998c. *Dasheen mosaic virus*. Research School of Biol. Sciences <http://life.anu.edu.au/viruses/ICTVdB/57010023.htm>.,
- CASTRO RUZ, F.** 1986. Informe Central. Tercer Congreso del Partido Comunista de Cuba. Ed. Política. La Habana
- CASTRO RUZ, F.** 1997. Informe Central. V Congreso del Partido Comunista de Cuba. Granma, 29 de octubre.
- CORTEGAZA, LEYDY; I. SANTANA, M. MATOS, ODALY NODARSE, J.R. PÉREZ, A. CHINEA, YENIMA PELLÓN Y ADA COLLAZO.** 2001. Saneamiento *in vitro* para el control de la escaldadura y el amarillamiento foliar en caña de azúcar. IV International Sc. Seminar of Plant Health. Varadero, Cuba. p. 250. 11-15/Jun.
- DIRECCION NACIONAL DE CULTIVOS VARIOS.** 1985. 20 años de producción de Cultivos Varios. Resumen Nacional. Malanga. MINAG. Ciudad Habana.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION).** 1994. UNITED NATIONS. *Production*. 48,
- GONSALVES, D. AND S.M. GARNSEY.** 1989. Cross-protection techniques for control of plant virus diseases in the tropics. *Plant Diseases* 73: 592-597,
- GRULLON, M.L.** 1984. Enfermedades asociadas con la yautía. *Agronomía. Año 13* (109): 17-18,
- HERNANDEZ, A.; J.M. PÉREZ JIMÉNEZ; D. BOCH; Y L. RIVERO.** 1994. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. MINAG. 66 pp. La Habana,
- HERNANDEZ, A.; MARISOL MORALES; J. RUIZ Y A. VANTOUR.** 1997. Enfoques sobre los principios genéticos-geográficos de los suelos como base agroecológica para su uso y manejo nacional. *Agrotécnia de Cuba* 27 (2-3) 69-74,
- KARTHA, K.K.** 1984. Elimination of viruses. *En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics*. Vol. I by Indra K. Vasil. Academic Press, Inc. N.Y., London, Toronto, Tokyo.

- LOVE, S.L.; B.B. RHODES; J.W. MOYER. 1987** Meristem-tip culture and virus indexing of sweet potatoes. *Practical manual for handling crops germplasm in vitro*. IBPGR. Rome. 46 p..
- McINTYRE, J.L.; J.A. DODDS, AND J.D. HARE. 1981.** Effects of localized infections of *Nicotiana tabacum* by Tobacco mosaic virus on systemic resistance against diverse pathogens and an insect. *Phytopathology* 71 (3): 297-310.
- MEDERO, V.; MAGALY GARCIA, O. CABRERA, J. LOPEZ, J. De la C. VENTURA, D. GALVEZ Y M. ALVAREZ. 1997.** Generalización de la tecnología de micropropagación de la malanga a escala comercial. *Agrotécnia de Cuba* 27 (2-3) 125-130.
- MINAG. 1986.** Pronóstico de los rendimientos agrícolas y pecuarios. Unidad de Pronósticos y Estudios Económicos Agropecuarios. Ministerio de la Agricultura. La Habana. Mimeografiado 31 pp. Julio,
- MINAG. 1988a.** Instructivo Técnico de la Malanga *Xanthosoma*. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Ministerio de la Agricultura. Cuba. 6 pp.
- MINAG. 1988b.** Instructivo Técnico de la Malanga *Colocasia*. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Ministerio de la Agricultura. Cuba. 6 pp.
- MINAG. 1997.** Datos Estadísticos. Dirección Nacional de Cultivos Varios, Dpto. de Estadísticas, Ministerio de la Agricultura,
- MINAG. 1998.** Instructivo Técnico sobre el Cultivo de la Malanga. Sedagri/Agriinfor. Ciudad Habana.
- QUINTERO, S. 1987.** Virosis de la malanga (*Xanthosoma* spp.) y malanga isleña (*Colocasia esculenta*) en Cuba. III Jornada Científica. INIVIT, Caibarién.
- QUINTERO, S. 1989.** Virosis de la malanga (*Xanthosoma* spp.) y malanga isleña (*Colocasia esculenta*) en Cuba. *Agrotecnia de Cuba* 21 (2): 75-85.
- RAMIREZ, PILAR. 1983.** Aroid virus research in Costa Rica. *In: Taro and Other Aroids for food, feed and fuel*. Proc. Conf. held at CATIE, Turrialba (Costa Rica). pp. 22-23, 16-19/Febrero.
- RAMOS, DORA L.; DORA M. LAMADRID, J.L. PEREZ. 1986.** Relación entre el peso del material de propagación y los rendimientos en malanga (*Xanthosoma* spp.). Tesis de Diploma IPA "Martín Torres Ruiz", Sto. Domingo, Cuba.
- RODRIGUEZ MANZANO, ARLENE. 2001.** Caracterización de germoplasma y variabilidad infraespecífica en *Colocasia esculenta* (L.) Schott en Cuba. Tesis doctoral. U.H. Fac. Biología-INIFAT, 100 pp. Ciudad Habana, Cuba.
- SOSA DELGADO, SONIA. 1992.** Densidad y método de plantación en el cultivo de la malanga del género *Xanthosoma*. UCLV. Fac. Ciencias Agropecuarias. Tesis.
- SOTO, J.A.; J.A. ARZE. 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* (Costa Rica) 36 (1): 39-46.
- STRAUSS, M.S.; J. ARDITTI. 1980.** Plantlet regeneration from shoot tip cultures of *Xanthosoma caracu*. *Annals of Botany* 45 (2) 209-212.
- TORRES, A.C.; S. LÓPEZ-TEIXEIRAS; Y.L. POSSER. 1998.** Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de virus. E: Cultura de tecidos e Transformação Genética de Plantas. EMBRAPA, CBAB. Pp. 133-145. Brasília.
- ZETTLER, F.W.; M.M. ABO EL-NIL; R.D. HARTMAN. 1978.** Dasheen mosaic virus. CMI/AAB. *Descriptions of Plant Viruses* No. 191.
- ZETTLER, F.W.; R.D. HARTMAN. 1987.** Dasheen mosaic virus as a pathogen of cultivated Aroids and control of the virus by tissue culture. *Plant Disease Report* 71(11) 958-963.

**ZETTLER, F.W.; M.M. ABO EL-NIL; R.D. HARTMAN. 1978.** Dasheen mosaic virus.  
CMI/AAB. *Descriptions of Plant Viruses* No. 191.