

Evaluación del efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca (*Manihot esculenta* Crantz)

Evaluation of the growing regulator effect on the *in vitro* regeneration of five cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz)

Arelys MARÍN¹, José Gerardo ALBARRÁN², Francia FUENMAYOR^{✉2} y Dinaba PERDOMO¹

¹Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay 2101, Aragua, Venezuela y ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Maracay 2101, Aragua, Venezuela. E-mails: arelysmarin2@hotmail.com, jgalbarran@inia.gov.ve, ffuenmayor@inia.gov.ve y dinabisa@yahoo.com ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 05/08/2008
Primera revisión recibida: 08/04/2009

Fin de primer arbitraje: 19/03/2009
Aceptado: 04/05/2009

RESUMEN

El cultivo de yuca es una importante fuente de carbohidratos y caloría para millones de personas en el trópico. Sin embargo, los métodos tradicionales de propagación presentan una baja tasa de multiplicación. Para satisfacer las necesidades de material de propagación con características deseables se requiere la implementación de técnicas de multiplicación masiva, lo cual es posible mediante el cultivo de tejidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca provenientes del CIAT. Los clones seleccionados fueron BRA 383, PER 183, CM 523-7, CM 3306-4 y SM 1565-15. Se usaron dos medios de cultivo semisólidos constituidos por sales minerales de Murashige y Skoog (1962), se diferenciaron por la siguiente combinación de reguladores de crecimiento: M1 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹) y M2 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹ + BA 0,5 mg L⁻¹). El medio M1 fue el mejor inductor para la regeneración de la mayoría de los cultivares evaluados, ya que hubo un buen desarrollo de brotes y raíces. Por el contrario el medio de cultivo M2 se observó poco desarrollo de brotes y raíces, en la mayoría de los clones evaluados. Se observó una respuesta diferencial del genotipo en el desarrollo *in vitro* de las plántulas. Los cultivares CM 523-7, PER 183 y BRA 383 mostraron los valores más altos para la mayoría de las variables evaluadas como: número de nudos, longitud de brotes y de raíces.

Palabras clave: Yuca, *Manihot esculenta* Crantz, cultivo de microestacas, regeneración *in vitro*

ABSTRACT

The cassava is an important source of carbohydrates and food energy for millions of people in the tropic. Nonetheless, traditional methods of propagation present a low multiplication rate. In order to cover the needs of materials with desirable characteristics by propagation, it is required to implement massive multiplication techniques, which is possible through tissue culture. The objective of this work was to evaluate the growth regulators effect on the *in vitro* regeneration of five cassava cultivars from CIAT. Five cultivars were used: BRA 383, PER 183, CM 523-7, CM 3306-4 y SM 1565-15. Two solid culture media were used that contain mineral salts of Murashige and Skoog (19632) were used. This media were differentiated by the following hormonal combination: M1 (ANA 0.02 mg L⁻¹ + AG₃ 0.05 mg L⁻¹) and M2 (ANA 0.02 mg L⁻¹ + AG₃ 0.05 mg L⁻¹ + BA 0.5 mg L⁻¹). For the *in vitro* multiplication of the cultivars, the media M1 was the best inductor of regeneration for the most cultivars evaluated because there was a vigorous growth of buds and roots. In the other hand, the media M2 produced relatively poor development of microcutting (shoots and root growth) in most of the evaluated cultivars. A differential genotypes response was observed in the *in vivo* development of plantlets. The cultivars CM-523-7, PER-183 and BRA 383 showed the best perform for the most variables evaluated: high vitroplants (growth rate), higher length and number of microcutting and good root system.

Key words: Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, microcutting culture, *in vitro* regeneration

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) ocupa el cuarto lugar en importancia como fuente de energía

producida en el trópico después del arroz, el maíz y la caña de azúcar. Es la mayor fuente de caloría para más de 500 millones de personas en el mundo. Más de la tercera parte de la producción de este cultivo se

utiliza para la alimentación humana y el resto en alimentación animal y usos industriales (FAO, 2000).

La yuca no sólo es un cultivo alimenticio de primera necesidad en todo el mundo tropical, sino también un importante cultivo comercial. Su enorme capacidad de adaptación a condiciones climáticas y edáficas adversas la hace un cultivo ideal para alcanzar la seguridad alimentaria, aún más hoy, en la medida en que los suelos pierden su fertilidad, los insumos son más costosos y los subsidios agrícolas se acaban (Donald *et al.*, 2000). A nivel mundial es principalmente producida como un cultivo de subsistencia por pequeños agricultores por lo que se adapta bien a los suelos pobres, es relativamente resistente a enfermedades y presenta un buen rendimiento (Dufour, 1996). La ventaja comparativa de la yuca está en áreas marginales, debido a una mejor adaptación a condiciones extremas comparada con otros cultivos alternativos, llega a ser uno de los más rentables, además tiene la ventaja de producir calorías más baratas en áreas marginales improductivas (Cock y Lynam, 1983).

Las raíces de yuca están dirigidas a cuatro mercados según sus usos: como raíz fresca y procesada para consumo humano, como insumo en la industria alimenticia, como materia prima en la industria productora de alimentos balanceados para animales y como producto intermedio en la industria no alimenticia.

El método estándar como el agricultor propaga este cultivo es plantando esquejes denominados estacas. Aunque las estacas tienen ventajas prácticas como medio de almacenamiento de germoplasma y como instrumento de propagación, son fuente de enfermedades de la planta y no se pueden transportar a través de las fronteras internacionales (CIAT, 2001a). Además, cuando se propagan plantas vegetativamente, las tasas de multiplicación son bajas. Es así como el potencial de propagación de yuca *in vitro* supera ampliamente al de las técnicas *in vivo* (sistema de hoja – yema y enraizamiento de brotes), sin embargo, con una combinación de estas técnicas de propagación es posible satisfacer todas las necesidades actuales de multiplicación de la yuca en la obtención de un material de buena calidad (Roca *et al.*, 1991). En China existen experiencias a nivel de productores usando material proveniente de cultivo *in vitro* con un alto porcentaje de sobrevivencia (90%) a nivel de campo (Guo y Liu, 1994).

En Venezuela es necesario producir “semillas” que garanticen el suministro de material de propagación de variedades o cultivares de alta calidad y rendimiento, adaptados a las diferentes zonas productoras de yuca del país. Existe además, un interés por cultivar variedades con proyecciones hacia la agroindustria por lo que se plantea la necesidad de satisfacer una demanda de “semilla” que sobrepasa la oferta tradicional de este rubro (Albarrán *et al.*, 2003). Por lo tanto en este cultivo la producción de “semillas” de buena calidad es esencial. El cultivo de tejidos es una técnica utilizada para la micropropagación vegetal para obtener vitroplantas de yuca en forma masiva, libres de plagas y patógenos aumentando así su productividad (Segovia *et al.* 2002). Al usar algunas técnicas de cultivo de tejidos, la multiplicación resulta alta y rápida, además, si el método utilizado es adecuado disminuyen los riesgos de dispersar plagas y enfermedades (Páez, 1996). La multiplicación *in vitro* de este cultivo es importante para multiplicar rápidamente clones seleccionados y producir “semilla” básica, propagar masivamente los clones elites y en la rehabilitación de cultivares cuya producción se haya deteriorado por acumulación de organismos patógenos (Roca *et al.*, 1991). Existen diferentes alternativas para acelerar la multiplicación cuyos principios son: producir brotes adventicios, inducir la embriogénesis somática, desarrollar yemas axilares y terminales y el desarrollo de brotes múltiples a partir de ápices caulinares. En este sentido el CIAT, está probando la propagación rápida de yuca, empleando el método de inmersión temporal, con la finalidad de incrementar la tasa de multiplicación y de este modo disponer de grandes cantidades de material libre de plagas y patógenos, lo que garantiza el flujo de material para futuras plantaciones (CIAT, 2001b; Fregene *et al.*, 2002).

En busca de mejorar la baja tasa de multiplicación en este cultivo, se han realizado investigaciones donde ha quedado demostrado que mediante modificaciones en la composición química del medio de cultivo, especialmente del balance citocininas/auxinas, así como de otras condiciones físicas y químicas del cultivo, es posible inducir la diferenciación de numerosas yemas; sin embargo, pueden ocurrir algunas variaciones en la respuesta, dependiendo de la variedad y de las condiciones del cultivo (Roca, 1983). El estado fisiológico determinará los factores exógenos que deben añadirse o sustraerse al medio de cultivo, para que pueda inducir la respuesta morfogénica requerida. Los

factores endógenos pueden variar cuantitativamente de acuerdo con las condiciones ambientales, el genotipo, el tipo de célula y otros aspectos (Litz y Jarret, 1991). Páez (1989a), encontró diferencias entre los genotipos evaluados en cuanto a la regeneración de brotes a partir de microestacas en medio semisólido con sales modificadas de Murashige y Skoog (MS) (1962) y baja concentración hormonal. Gouhua (1998), demostró el efecto de las citocininas en promover la organogénesis, destacando la importancia de benciladenina (BA) y tiadiazuron en combinación con auxinas. Páez (1989b) señala que algunos medios de cultivo para iniciación de cultivo de tejidos en yuca que contienen ácido naftalenético (ANA) y bencil aminopurina (BAP) en determinadas concentraciones conducen a la formación de callos. En la evaluación de 19 clones élites de yuca, Marín *et al.* (2008) encontraron diferencias significativas entre los clones evaluados, en cuanto al desarrollo de la parte aérea (longitud de vitropiantas y número de nudos producidos) y cantidad de raíces mostrado por los mismos, en medio MS con 0,02 mg L⁻¹ de ANA.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento ANA, GA₃ y BA en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca provenientes del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

El ensayo se realizó en la Unidad de Biotecnología Agrícola del Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP); ubicado en Maracay, estado Aragua.

Material vegetal

Se utilizaron microestacas de una yema de cinco clones de material elite de yuca: BRA 383, PER 183, CM 523-7, CM 3306-4 y SM 1565-15; los cuales fueron seleccionados de 20 clones élites introducidos del CIAT ubicado en Colombia, a través del Acuerdo de Transferencia de Material (ATM) entre la FAO, CGIAR y el CIAT.

Metodología

Para evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de yuca se

usaron dos medios de cultivo semisólidos constituidos por sales minerales de Murashige y Skoog (1962), con los siguientes constituyentes orgánicos: tiamina HCL 100 ppm, mio-inositol 8000 ppm, sacarosa 2%, agar 0,7%. Se evaluaron combinaciones de las siguientes fitohormonas: M1 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹) y M2 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹ + BA 0,5 mg L⁻¹). Se implantaron seis microestacas en frascos de vidrio de 200 ml, a los que se agregó 25 ml de medio de cultivo. El material vegetal una vez implantado se mantuvo en cuarto de crecimiento a una temperatura de 28 ± 1 °C y 79,5 µmol/m².s de iluminación con fotoperíodo de 16 horas luz durante ocho semanas.

La combinación de los dos medios de cultivo (M1 y M2) con los cinco clones (BRA 383, PER 183, CM 523-7, CM 3306-4 y SM 1565-15) conformaron 10 tratamientos, los cuales quedaron distribuidos de la siguiente manera:

T1: M1 BRA 383	T6: M2 CM 523-7
T2 : M2 BRA 383	T7: M1 CM 3306-4
T3: M1 PER 183	T8: M2 CM 3306-4
T4: M2 PER 183	T9: M1 SM 1565-15
T5: M1 CM 523-7	T10: M2 SM 1565-15

Este ensayo fue llevado a cabo bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones, cada unidad experimental (UE) estuvo conformada por seis microestacas. Transcurridas las ocho semanas, las plántulas fueron extraídas de los frascos, se determinó el número de nudos por vitropianta, longitud, peso fresco y peso seco de brotes y raíces y porcentaje de callo; posteriormente fueron colocadas en estufa a 80 °C por 96 horas y fueron pesadas nuevamente para determinar el peso seco. Se realizó análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los tratamientos (T2, T4 y T8) constituidos por el medio M2 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹ + BA 0,5 mg L⁻¹) no hubo desarrollo de raíces ni parte aérea, se observó un alto porcentaje de formación de callo que varió de 71 a 100 % (Cuadro 1), posiblemente podría deberse a un efecto inhibitorio en el desarrollo de las yemas inducido por un balance auxina/citoquinina (endógeno y exógeno) cercano a la unidad, que promovió el desarrollo de callo, estos resultados coinciden con los obtenidos por Páez (1989b) en la inducción de brotes múltiples de

yuca a partir de ápices caulinares del cultivar UCV 2578, ya que en los medios de cultivo que contenían ANA y BAP a diferentes concentraciones se observó una mayor formación de callo con respecto a aquellos medios que contenían solo BAP. En algunas microestacas de los tratamientos T6 y T10 hubo desarrollo del brote, y solo T6 formó raíces en menor longitud que los demás tratamientos; estos resultados indican que la presencia de BA a la concentración de 0,5 mg L⁻¹ en el medio de cultivo, influyó en el poco desarrollo de brotes y raíces de la mayoría de los cultivares estudiados (Figura 1). La respuesta en el M1 mostró una tendencia distinta; hubo mayor desarrollo de brotes y raíces variando de un clón a otro, como se observa en el caso de BRA 383 y SM 1565-15 (Figura 2). Este tipo de respuesta coincide con lo señalado por Litz y Jarret, (1991); quienes reportan que en algunos materiales los factores endógenos pueden variar cuantitativamente de acuerdo con las condiciones ambientales y el genotipo para inducir una respuesta morfogénica requerida.

Con relación al número de nudos producidos se observó una respuesta diferencial en cuanto a los medios de cultivo probados, encontrándose un mejor comportamiento en el medio M1, observándose que los clones en este medio presentaron el mayor número de microestacas/vitroplanta y a su vez se observan diferencias entre los clones, siendo el T5 (CM 523-7) el que mostró el mayor número de microestacas, seguido por T3 (PER 183), (Cuadro 1). Esto concuerda con lo mencionado por Oliveira *et al.* (2000), quien concluye que hay un efecto pronunciado del genotipo en el desarrollo *in vitro* de

plántulas de yuca y con los resultados obtenidos por Marín *et al.* (2008) que encontraron diferencias significativas entre 19 clones élitos de yuca evaluados *in vitro*.

En cuanto a la longitud de la parte aérea, hubo diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, siendo mayores los obtenidos en el T5



Figura 1. Clon CM 3306-4 crecido en medio de cultivo M2 donde se observa poco crecimiento del brote y formación de callo en la base del explante.

Cuadro 1. Efecto del medio de cultivo sobre la respuesta de las microestacas de diferentes cultivares de yuca (*Manihot esculenta* Crantz).

Tratamientos	Número de nudos *	Longitud de vástagos (cm) *	Peso fresco de vástagos (g) *	Peso seco de vástagos (g) *	Longitud de raíces (cm) *	Peso fresco de raíces (g) *	Porcentaje de callo *
T1 M1 BRA 383	3 c	3,6 ab	101,6 ab	18,3 ab	7,5 a	61,6 bc	0,0 d
T2 M2 BRA 383	0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d	0,0 d	0 d	71,6 c
T3 M1 PER 183	5 b	3,8 ab	95,0 ab	13,6 bc	6,6 ab	75 a	0,0 d
T4 M2 PER 183	0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d	0,0 d	0 d	88,6 b
T5 M1 CM 523-7	7 a	4,9 a	130,0 a	16,9 ab	4,8 bc	45 c	0,0 d
T6 M2 CM 523-7	2 cd	1,6 c	53,3 b	6,0 c	2,9 c	33,3 c	77,3 c
T7 M1 CM 3306-4	4 bc	3,3 bc	93,3 ab	13,1 bc	4,8 bc	51,6 bc	0,0 d
T8 M2 CM 3306-4	0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d	0,0 d	0 d	100,0 a
T9 M1 SM 1565-15	4 bc	3,0 bc	98,3 ab	12,1 bc	4,4 bc	75 a	0,0 d
T10 M2 SM 1565-15	2 cd	3,0 bc	135,0 a	23,0 a	0,0 d	0 d	100,0 a

* Diferencias significativas al 5 %. Letras distintas en los valores dentro de una misma columna, indican diferencias, según prueba de rangos múltiples de Duncan.

ubicándose en el primer grupo, seguidas por T3 y T1 (Cuadro 1), estos brotes presentaron hojas de color verde intenso con tallos rectos. Los brotes de menor longitud fueron aquellos que se lograron en el M2: T6 y T10; los brotes obtenidos en el T10 mostraron una tendencia a formar tallos gruesos con entrenudos cortos y sin raíces; la mayor longitud de brotes alcanzada en M2 coincidió con la menor longitud obtenida en M1, para el clon SM-1565-15 (Cuadro 1). Páez (1989b), obtuvo resultados similares al cultivar microestacas de yuca usando el clon UCV-2578 en un medio de cultivo MS con concentraciones muy bajas de BAP o sin BA.

El peso fresco de los brotes aéreos varió significativamente en los tratamientos evaluados, siendo mayor en T10 y T5 (brotes con mayor longitud), seguidos por T1, T9, T3 y T7 (Cuadro 1). Es importante resaltar que en este caso el mayor peso fresco de la parte aérea en T10 no se relaciona con el mejor tratamiento; ya que los brotes obtenidos en T10 presentan tallos gruesos, con poco follaje, una coloración verde-amarillenta y entrenudos cortos. Los mayores valores de peso seco se obtuvieron en el T10, seguido por T1 y T5 (Cuadro 1). En este caso la composición del medio de cultivo M2 influyó sobre una mayor división celular y diferenciación de los tejidos que conforman el tallo y muy poco sobre la diferenciación foliar ocasionando alteraciones del

crecimiento que disminuyen el vigor de las plantas del clon SM 1565-15. En el caso de T5 (clon CM 523-7) la mayor longitud de brotes y raíces frescas se relaciona con buen vigor y crecimiento normal de las plantas.

En el caso de la longitud de las raíces se puede observar que hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, siendo mayores en el T1 seguido por T3 (Cuadro 1), en los tratamientos representados por el M2 solo hubo formación de raíces en el T6, aunque las mismas presentaron menor longitud. La ausencia de BA en M1 promovió la formación de raíces en los cinco (5) clones evaluados, lo cual está relacionado con el balance exógeno de auxinas y citoquininas. En el caso de M2, el clon CM 523-7 posiblemente predominó el efecto del genotipo en la formación de raíces. Este efecto es importante ya que la presencia de raíces en las plántulas de yuca, en cantidades equilibradas con el desarrollo de la parte aérea, beneficia la multiplicación, debido a que promueve mayor absorción de nutrientes y consecuentemente la producción de yemas que servirán de explantes para los subcultivos subsecuentes (Oliveira *et al.*, 2000).

Con respecto al peso fresco de raíces varió significativamente entre los tratamientos, siendo las del T3 las que alcanzaron el mayor peso seguidas por las del T9 (Cuadro 1). El tratamiento T3 (clon PER-183) presentó valores altos de longitud y peso fresco de raíces, así como de la parte aérea. El tratamiento T5 (clon CM 523-7) presentó similares resultados al clon PER-183, excepto en el peso fresco de la raíz. El crecimiento vigoroso tanto de la parte aérea como radical son importantes en las plantas de yuca.

CONCLUSIONES

Para la multiplicación *in vitro* de los cultivares estudiados, el medio M1 (ANA 0,02 mg L⁻¹ + AG₃ 0,05 mg L⁻¹), fue el mejor inductor para la regeneración de la mayoría de los cultivares evaluados, ya que hubo un desarrollo de brotes y raíces, lo que podría influir en una mejor adaptación de las vitroplantas a nivel de umbráculo y campo. La adición de BA a la concentración de 0,5 mg L⁻¹ en el medio de cultivo fue determinante en el escaso desarrollo de las microestacas (producción de brotes y raíces) en la mayoría de los cultivares estudiados. Los cultivares CM 523-7, PER 183 y BRA 383 mostraron el mejor comportamiento para las variables evaluadas: número de nudos y longitud de brotes, lo



Figura 2. Clones BRA-383 y SM-1565-15 regenerados en M1. Se observa el efecto del genotipo sobre el crecimiento.

que permitiría obtener una mayor cantidad de vitroplantas para posteriores multiplicaciones, esto es indicativo de que estos materiales pueden ser multiplicados rápidamente sin dificultad en el medio M1.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar concentraciones bajas ($< 0,5 \text{ mg L}^{-1}$) de BA en el medio de cultivo para regeneración *in vitro* de yuca, siempre y cuando no se haya planteado como objetivo la obtención de brotes múltiples, ya que solo con la adición de ANA es suficiente para lograr resultados positivos en la multiplicación de estos cultivares. Seguir evaluando estos medios con otros clones élites introducidos del CIAT y con clones locales con alto potencial que se encuentran en los bancos de germoplasma del INIA-CENIAP y la Facultad de Agronomía-Universidad Central de Venezuela.

LITERATURA CITADA

- Albarrán, J. G.; F. Fuenmayor y M. Fuchs. 2003. Propagación clonal rápida de variedades comerciales de yuca mediante técnicas biotecnológicas. Revista Digital CENIAP Hoy Vol. 3. www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n3/texto/albaran.htm.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (2001a). Recursos Genéticos. (En línea). <http://www.ciat.cgiar.org/yuca/mejoramiento.htm> (Consulta: septiembre, 2002).
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. (CIAT). (2001b). Biotecnología. (En línea). <http://www.ciat.cgiar.org/yuca/biotecnologia.htm> (Consulta: septiembre, 2002).
- Cock, J. H. y J. K. Lynam. 1983. Potencial futuro e investigación necesaria para el incremento de la yuca. *In: Yuca: Investigación, producción y utilización.* Domínguez M., Carlos E. (comp.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de Yuca; Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Cali, Colombia. p. 1-25.
- Donald, L.; P. Truman and B. Robert. 2000. A global development strategy for cassava. Transforming a traditional tropical root crop. (En línea). <http://www.globalcassavastrategy.net/index.htm> (Consulta: septiembre, 2002)
- Dufour, D. 1996. Apoyo al sector almidonero de yuca en Colombia. Impacto del proyecto CIRAD/CIAT. *In: A. Montaldo. La yuca frente al hambre del mundo tropical.* Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía y Veterinaria, CECOTUD-FEDEAGRO- Fondo de Crédito Agropecuario. Maracay - Venezuela. p. 301-311.
- FAO. 2000. Defensa de la causa de la yuca. <http://www.fao.org/Noticias/2000/000405-s.htm> (Consulta: marzo, 2009)
- Fregene M.; J. Thome, W. Roca, P. Chavarriaga, R. Escobar y H. Ceballos. 2002. Biotecnología para la yuca. *In: Ospina B, Ceballos H (Comps.) La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización.* CIAT. Cali, Colombia. p. 503-526.
- Guo, J. and Y. Q. Liu. 1994. Rapid propagation of cassava by tissue culture and its application in rural districts in China. *In: International Scientific Meeting on Cassava Biotechnology Network, 2, Bogor, Proceedings, Bogor: Cassava Biotechnology Network.* 1994. p. 183-189.
- Guohua, M. 1998. Effects of cytokinins and auxins on cassava shoot organogenesis and somatic embryogenesis from somatic embryo explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 54 (1): 1-7.
- Litz, R. and R. Jarret. 1991. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: embriogénesis somática y organogénesis. *In: W. Roca y L. Mroginski. Cultivo de tejidos en la agricultura.* CIAT. Cali-Colombia. p. 143-172.
- Marín, A.; D. Perdomo, J. G. Albarrán; F. Fuenmayor y C. Zambrano. 2008. Evaluación agronómica, morfológica y bioquímica de clones élites de yuca a partir de vitroplantas. *Interciencia* 33 (5) : 365-371.
- Murashige, T and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Oliveira, R. P.; T. Da Silva Gomes e A. D. Vilarinhos. 2000. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de

- mandioca. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, (Brasília) 35 (12): 2329-2334.
- Paez, J. 1989a. Propagación *in vitro* de dos cultivares de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Rev. Fac. Agron. Alcance. U.C.V. Maracay. 38: 131-138.
- Páez, J. 1989b. Obtención de rosetas y el desarrollo de brotes foliares para la propagación múltiple *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Rev. Fac. Agron. Alcance. U.C.V. Maracay. 38: 139-146.
- Páez, J. 1996. Técnicas de cultivos de tejidos vegetales y sus aplicaciones en yuca. *In:* A. Montaldo. La yuca frente al hambre del mundo tropical. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía y Veterinaria, CECOTUD-FEDE AGRO- Fondo de Credito Agropecuario. Maracay Venezuela. p. 191- 206.
- Roca, W. 1983. Cultivo de tejidos en yuca. *In:* Yuca: Investigación, Producción y Utilización. Domínguez C. (Comp.) Doc. N° 50. CIAT. Cali, Colombia. p. 153-163.
- Roca, W.; B. Nolt, G. Mafla, J. Roa y R. Reyes. 1991. Eliminación de virus y propagación de clones en la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *In:* Cultivo de Tejidos en la Agricultura. W. Roca y L. Mroginski. Editores Técnicos. CIAT. Cali-Colombia. p. 403-420.
- Segovia R.; A. Bedoya, W. Triviño, H. Ceballos, G. Gálvez y B. Ospina. 2002. Metodología para el endurecimiento masivo de 'vitroplantas' de yuca. *In:* La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. B. Ospina y H. Ceballos (editores). CIAT. Cali, Colombia. p. 573-584.