

# Avances en la aplicación de la radiomutagenesis *in vitro* para el mejoramiento genético de portainjertos cítricos

Alba Álvarez González<sup>1</sup>, Livia Santiago Hernández<sup>1</sup>, Sandra Carro Palacios<sup>1</sup>,  
Victoria Zamora Rodríguez<sup>2</sup>, Jorge R. Cueto Rodríguez<sup>2</sup>, Alina Puente Sánchez<sup>2</sup>,  
Armando Chávez Ardanza<sup>1</sup>, María C. González Cepero<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Radiomutagénesis y Biotecnología. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN).  
Calle 30 esq. 5ta Ave. Miramar, Playa, La Habana. Cuba.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT).  
Calle 7ma e/ 30 y 32. Miramar, Playa, La Habana

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Carretera San José-Tapaste, km 3½. Gaveta Postal 1.  
San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

aalvarez@ceaden.edu.cu

## Resumen

Desde los años 80 del pasado siglo, el Departamento de Radiobiología del Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) ha colaborado con importantes grupos de mejoradores del país en la obtención de mutantes de arroz, tomate, caña de azúcar, soya, entre otros; no sólo con la irradiación de materiales, sino también en la caracterización bioquímica y molecular de los mutantes generados, principalmente de arroz. A partir del 2000 se inician proyectos de radiomutagénesis en frutales (cítricos y aguacatero), en colaboración con el Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). En este trabajo se presentan los avances en el establecimiento de una metodología de radiomutagénesis *in vitro* en portainjertos de interés para la citricultura cubana (citrumelo Swingle, *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium*, mandarina Cleopatra y citrange Carrizo). Se desarrolló un protocolo de selección *in vitro* de líneas con posible tolerancia a la sequía, se determinaron las dosis selectivas frente a PEG-6000 y se identificaron posibles descriptores de la respuesta al estrés hídrico *in vitro*. Se evaluó en citrumelo Swingle un protocolo de selección de tolerancia a la alcalinidad, basado en un medio deficiente de hierro. Se desarrollaron tres lotes de líneas mutantes seleccionadas frente a estrés hídrico, los que se encuentran en evaluación y se han identificado hasta el momento, dos líneas con mayor relación diámetro/altura, cuatro líneas de interés por el acortamiento de los entrenudos, una de ellas de bajo porte y cinco con mejor vigor y comportamiento fitopatológico.

**Palabras clave:** *Citrus*; mutantes inducidos por radiación; mutagénesis; sequía; alcalinidad.

## Advances in the application of *in vitro* radiomutagenesis for the genetic improvement of *Citrus* rootstocks

### Abstract

Since the 80's of the last century, the Radiobiology Department at CEADEN has collaborated with important genetic breeding groups in the country in obtaining mutants of rice, tomato, sugar cane, soybean, among others; not only with the irradiation of materials, but also in the biochemical and molecular characterization of the mutants generated, mainly in rice. Starting in 2000, radiomutagenesis projects began in fruit crops (*Citrus* and avocado) in collaboration with the Tropical Fruit Growing Research Institute (IIFT) and the International Atomic Energy Agency (IAEA). This work presents the advances in establishing an *in vitro* radiomutagenesis methodology for rootstocks of interest for the Cuban citriculture (Swingle citrumelo, *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium*, Cleopatra mandarin and Carrizo citrange). An *in vitro* selection protocol for lines with possible tolerance to drought was developed, the selective doses against PEG-6000 were determined and putative descriptors of the response to *in vitro* water stress were identified. An alkalinity tolerance selection protocol, based on an iron deficient selective medium, was evaluated on Swingle citrumelo. Three lots of mutant lines selected against water stress were developed which are currently under evaluation. At the moment, two mutant lines with higher diameter/height ratio, four lines with shorter internodes (one of them with reduced height) and five lines with higher vigor and better phytopathological behavior have been identified.

**Key words:** *Citrus*; radiation induced mutants; mutagenesis; drought; alkalinity.

## Introducción

Como método de mejoramiento genético, la radiomutagénesis ha permitido inducir genes que controlan caracteres como el enanismo, la precocidad, los componentes del rendimiento y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos [1]. A partir de los años 80 del pasado siglo, diferentes grupos de mejoradores en Cuba obtuvieron y registraron variedades mutantes de arroz, tomate, ajo, caña de azúcar, soya y flor de jamaica [2]. El Departamento de Radiobiología del Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN), colaboró desde los inicios con el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), el actual Instituto de Investigaciones de Granos (IIG) y otros, desarrollando no sólo la irradiación de los materiales, sino también la caracterización bioquímica y molecular de la base genética, comercial y de los principales mutantes de arroz generados en estos programas [3, 4].

En los años 2000 el CEADEN comienza a participar en proyectos de radiomutagénesis *in vitro* para el mejoramiento de frutales como cítricos y aguacatero, en colaboración con el Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical (IIFT) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Se caracterizó la diversidad genética del germoplasma de aguacatero en Cuba, se seleccionaron los genotipos de interés y se establecieron metodologías de propagación y selección *in vitro* de tolerancia a sequía y salinidad a partir de embriones cigóticos [5-7].

En cuanto a los cítricos, el cultivo requiere de nuevas estrategias de manejo, que incluyen el uso de portainjertos enanizantes en plantaciones de alta densidad, frente a las grandes afectaciones por el enverdecimiento de los cítricos o huanglongbing (HLB) [8]. También es de interés mejorar la tolerancia frente a los retos del cambio climático como la sequía y los suelos alcalinos, que limitan el uso de algunos de estos cultivares en importantes regiones cítricas del país [9]. Por ello, a partir del 2015, se ha trabajado en el establecimiento de metodologías de radiomutagénesis y micropropagación *in vitro* de los portainjertos de interés para la citricultura cubana. Esto permitió el desarrollo de líneas mutantes seleccionadas *in vitro*, las cuales son actualmente evaluadas en condiciones controladas y de campo, como parte de un proyecto con el Grupo Empresarial Agrícola (GAG).

En este trabajo se presentan los avances en el establecimiento de una metodología de radiomutagénesis y propagación *in vitro* de portainjertos de interés para la citricultura cubana; en el desarrollo de protocolos para la selección *in vitro* de líneas con posible tolerancia a la sequía y a la alcalinidad de los suelos; así como el estado actual en la evaluación de algunas líneas mutantes.

## Materiales y métodos

### 1. Protocolo de radiomutagénesis y propagación *in vitro* de portainjertos cítricos basado en organogénesis adventicia:

En un estudio previo, se estableció un protocolo de radiomutagénesis y micropropagación *in vitro* basado en organogénesis adventicia en el portainjertos citrumelo Swingle [10]. A partir de este protocolo, se comparó su eficiencia entre cuatro portainjertos (citrumelo Swingle, *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium* y mandarina Cleopatra). Se establecieron las dosis mutagénicas de Cobalto 60 (<sup>60</sup>Co) y se comparó la brotación, el enraizamiento y la adaptación a sustrato.

### 2. Esquema de selección *in vitro* de tolerancia a sequía:

Se obtuvieron vitroplantas de los portainjertos citrange Carrizo, *Citrus macrophylla* y mandarina Cleopatra, obtenidas según [10] y se subcultivaron *in vitro* por seis meses hasta tener como mínimo dos entrenudos y cinco hojas desarrolladas. Estas se sometieron a tres tratamientos: medio Murashige-Skoog (MS) con un 0 (control), 10, 20 y 30 % de polietilenglicol (PEG-6000) durante 14 días. Las curvas dosis-efecto se desarrollaron considerando el porcentaje de supervivencia a los 30 días de retirado el estrés, en 15 vitroplantas por tratamiento. Se evaluaron ocho caracteres morfofisiológicos (altura de la planta, largo de la raíz, número de hojas, necrosis foliar, necrosis del ápice del brote, oscurecimiento radicular, necrosis del ápice radicular y estrechamiento de las raíces) y se comparó el índice de tolerancia relativo (ITR) de los mismos [11] a los 14 días, respecto al control.

### 3. Esquema de selección *in vitro* de posible tolerancia a alcalinidad:

Los ensayos se desarrollaron en vitroplantas de citrumelo Swingle obtenidas como se indica en el acápite anterior, las que se sometieron por 30 días a tres tratamientos selectivos: control (C), intermedio ( $\frac{1}{2}$  Fe) y deficiente de hierro (0 Fe); consistentes en MS, MS conteniendo la mitad de la concentración de las sales de hierro y MS basal sin sales de hierro, respectivamente [12]. Se utilizaron 15 vitroplantas por tratamiento, considerando la supervivencia a los 30 días de retirado el estrés. A los 7, 14, 21 y 28 días de estrés, se evaluaron seis caracteres morfofisiológicos (altura de la planta, número de hojas, número y largo promedio de las raíces y porcentaje de enraizamiento secundario). El grado de clorosis en las hojas se determinó como el número de hojas con síntomas de clorosis, del total.

### 4. Líneas mutantes:

Se desarrollaron tres lotes de líneas mutantes de *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium*, citrange Carrizo y citrumelo Swingle seleccionadas *in vitro* frente a estrés hídrico. El lote 1 (L1) fue aclimatado y adaptado a sustrato según el protocolo establecido [10] y los lotes L2 y L3 fueron injertados para acelerar su propagación clonal

y su entrada en fase productiva. En diciembre de 2020 se sembraron 39 líneas mutantes en parcela experimental J-10, de la UCTB “Félix Duque”, Jagüey Grande, Matanzas. Cada seis meses se evaluaron variables del crecimiento como la altura de la planta, la relación diámetro altura (D/A), el largo promedio de los entrenudos (LE) y se realizaron evaluaciones fitosanitarias.

### 5. Análisis de los datos:

Las curvas dosis-efecto se obtuvieron por ajuste de los valores medios en Origin-PC, a partir de un diseño experimental completamente aleatorizado. Se calculó la media, desviación estándar y error estándar de cada carácter evaluado y se determinó el ajuste a la normalidad y la homogeneidad de varianza por las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente. Se aplicaron las pruebas de comparación de medias correspondientes (SPSS V19) y los porcentajes se compararon con una prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) de comparación de proporciones (Statgraphics Plus V5.1).

## Resultados y discusión

### 1. Protocolo de radiomutagénesis *in vitro* basado en organogénesis adventicia en tres portainjertos cítricos:

A partir de las curvas de radiosensibilidad se determinaron las dosis mutagénicas para segmentos de epicótilo de cada portainjertos (tabla 1). Excepto para citrumelo Swingle, que resultó más radiorresistente ( $DL_{50}=45$  Gy); la radiosensibilidad fue similar para los restantes portainjertos, con  $DL_{50}$  entre 26 y 29 Gy. Estos valores están en el rango informado para especies cítricas como la mandarinas Fremont, el tangor Murcott y la lima Rangpur (de 22 a 34,5 Gy) [13]. Aunque se considera que  $DL_{50}$  ( $\pm 10\%$ ) garantiza la mayor frecuencia de mutaciones; en nuestros trabajos se recomendó una dosis intermedia que permite inducir mutaciones sin un alto grado de daños deletéreos. En este caso, se utilizó la dosis que reduce en un 30% la supervivencia ( $DL_{30}$ ).

Tabla 1. Dosis mutagénicas frente a rayos gamma de  $^{60}Co$

Cultivar	$DL_{50}$	$DL_{30}$
<i>Citrus macrophylla</i>	27 Gy	15 Gy
mandarina Cleopatra	26 Gy	15 Gy
<i>Citrus aurantium</i>	29 Gy	18 Gy
citrumelo Swingle	45 Gy	37 Gy

Al utilizar 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 6-bencilaminopurina (6-BAP) según el protocolo establecido [10], se observaron los mayores valores de brotación adventicia (97 y 90 %) para citrumelo Swingle y *Citrus macrophylla*, respectivamente; un 87 % para mandarina Cleopatra y el valor más bajo, para *Citrus aurantium* (68 %). Al evaluar los tratamientos de enraizamiento [10], se obtuvieron los mayores porcentajes y número de raíces por explante en MS suplementado con ácido 1-naftilacético (ANA) para todos los portainjertos, excepto para mandarina Cleopatra que no mostró diferencias entre tratamientos (figura 1). En el caso de citrumelo Swingle, se observó un mayor número de raíces primarias y de mayor longitud en el medio de suplementado con ácido 4-3 indolbutírico (AIB), sin embargo, a partir de los 30 días se observó un enraizamiento secundario, que alcanzó un valor significativo (92 %) a los 60 días en el medio suplementado con ANA [10]. En general, el mejor comportamiento del enraizamiento en medio suplementado con ANA estuvo en correspondencia con otros estudios en *Citrus* spp. [14]. La adaptación a sustrato estuvo en correspondencia con el grado de enraizamiento previamente obtenido para cada portainjertos. Así, se obtuvo un 92, 62, 60 y 55 % de adaptación a sustrato para citrumelo Swingle, mandarina Cleopatra, *Citrus aurantium* y *Citrus macrophylla*, respectivamente. Tanto para la brotación como para el enraizamiento, la variación en la respuesta estuvo determinada por el genotipo, indicando que, aunque el protocolo de organogénesis adventicia establecido puede ser aplicado en los portainjertos estudiados con un determinado grado de eficiencia, son necesarios estudios adicionales con diferentes concentraciones o combinaciones de reguladores del crecimiento para alcanzar la respuesta óptima de cada genotipo en las diferentes etapas del mismo.

### 2. Selección *in vitro* de posible tolerancia a la sequía:

Con el análisis de las curvas dosis-efecto, se pudo observar una menor supervivencia de citrange Carrizo, mientras la mayor tolerancia se observó en las vitroplantas de mandarina Cleopatra, en correspondencia con su comportamiento diferencial frente a la sequía (figura 2). A partir de las curvas dosis efecto, se obtuvieron  $DL_{50}$  de 15, 17 y 30 % de PEG-6000 para citrange Carrizo, *Citrus macrophylla* y mandarina Cleopatra, respectivamente. Considerando los valores obtenidos en este estudio, para los futuros esquemas de mejora-

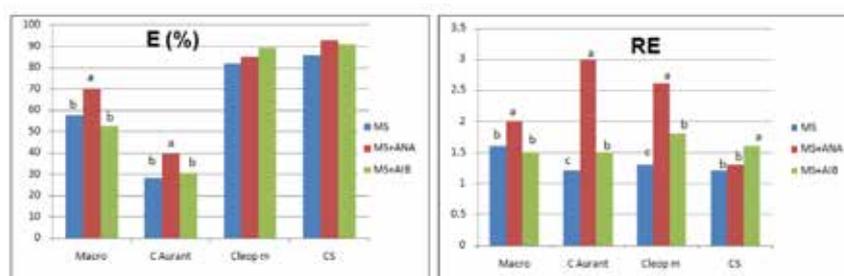
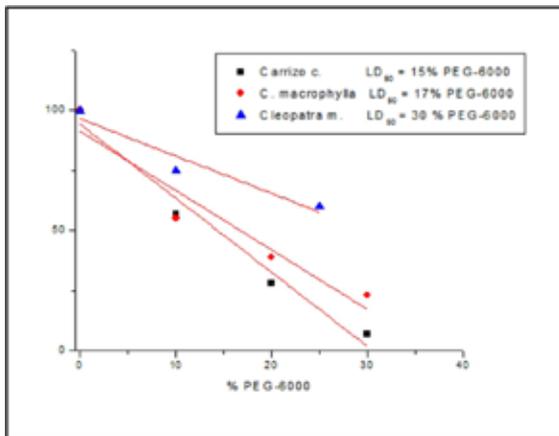


Figura 1. Porcentaje de enraizamiento (E) y número de raíces por explante (RE) para brotes adventicios de *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium*, mandarina Cleopatra y citrumelo Swingle en medio de enraizamiento MS, MS+ANA y MS+AIB. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

miento, se determinó aplicar dosis selectivas iguales o superiores a la  $DL_{50}$  del genotipo más susceptible. Por ello, en los lotes de líneas mutantes desarrollados posteriormente, se aplicaron dosis selectivas de 15 y de 20 % de PEG-6000 por 14 días.



**Figura 2.** Curvas dosis-efecto y valores de  $DL_{50}$  para citrange Carrizo, mandarina Cleopatra y *Citrus macrophylla*, basados en la supervivencia de las vitroplantas frente a PEG-6000 por 14 días.

Se comparó el ITR de ocho caracteres morfofisiológicos, para analizar su posible utilidad como descriptores de la respuesta *in vitro* frente a estrés hídrico en portainjertos cítricos. Se obtuvo que cuatro de ellos (la altura de la planta, la necrosis foliar, la necrosis del ápice radicular y el estrechamiento de las raíces), fueron diferentes del control (figura 3), sugiriendo su utilidad para la selección de genotipos con tolerancia al estrés hídrico *in vitro*.

Con el fin de corroborar estos resultados, se prevén estudios adicionales para evaluar la correlación de estos caracteres con la supervivencia *ex vitro* de las plantas, así como su comportamiento en ensayos de estrés hídrico en condiciones controladas y en campo.

### 3. Selección *in vitro* de posible tolerancia a alcalinidad:

El cambio climático, no solo provoca la sequía. El incremento de las temperaturas, combinadas con el mal manejo de la fertilización y la calidad del agua de rie-

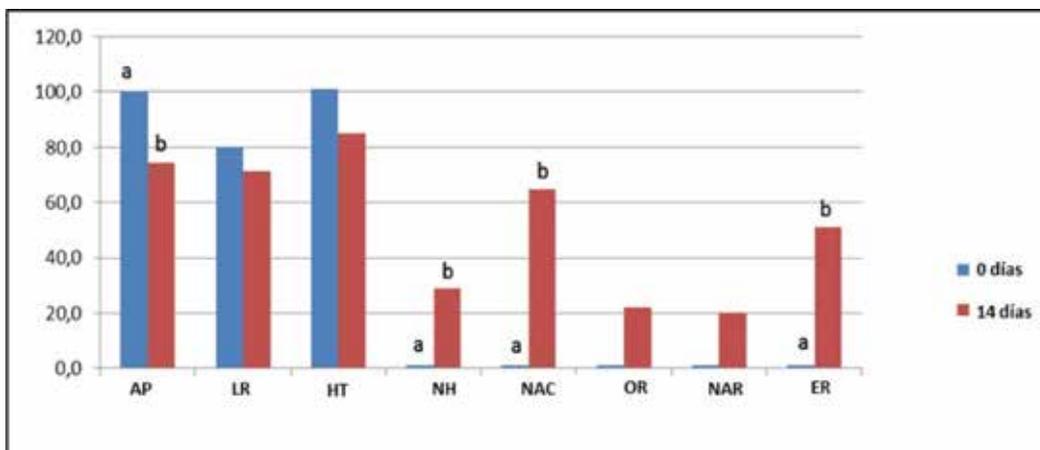
go, han conllevado a la alcalinización de algunos de estos, como es el caso de la región de Jagüey Grande, importante zona cítrica del país. Los suelos alcalinos inducen una fuerte clorosis férrica, que afecta principalmente a los portainjertos trifoliados. Por ello, se inició un estudio para establecer un esquema de selección *in vitro* de mutantes con posible tolerancia a la alcalinidad.

La solubilidad del hierro está muy influenciada por el pH del suelo. En condiciones ácidas predomina la forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) que es soluble; mientras que en medio alcalino, el  $Fe^{2+}$  es oxidado a la forma férrica ( $Fe^{3+}$ ), que precipita como óxidos e hidróxidos disminuyendo su biodisponibilidad. Bajo este principio, en muchos estudios de evaluación de portainjertos cítricos y de otros frutales [12] se ha utilizado como método selectivo, un medio deficiente de hierro. En este trabajo se diseñó un esquema de selección *in vitro* con tres tratamientos: control, intermedio y deficiente de hierro en el portainjerto citrumelo Swingle.

Con respecto a los caracteres evaluados, se observó que la altura de la planta y el número de raíces mostraron una afectación en función del déficit de hierro a partir de los 21 y 28 días de estrés, respectivamente (figura 4 A y B). En este ensayo *in vitro*, la clorosis en hojas se manifestó como un aclaramiento del color verde en los espacios entre las nervaduras. El grado de clorosis tuvo un incremento marcado a partir de los 14 días y también en función del déficit de sales de hierro en el medio (figura 4 C y D). Por otra parte, la supervivencia de las vitroplantas a los 30 días de retirado el estrés fue de 87, 73 y 53 % para el control, el medio  $\frac{1}{2}$  Fe y el medio 0 Fe, respectivamente, indicando que el medio MS sin sales de hierro (0 Fe) puede ser utilizado como medio selectivo para el desarrollo de lotes de líneas mutantes.

### 4. Líneas mutantes en evaluación:

Las líneas mutantes desarrolladas serán evaluadas frente a estrés hídrico, en condiciones semicontroladas y de campo. Para ello, además de los lotes obtenidos por enraizamiento de los brotes adventicios [10],

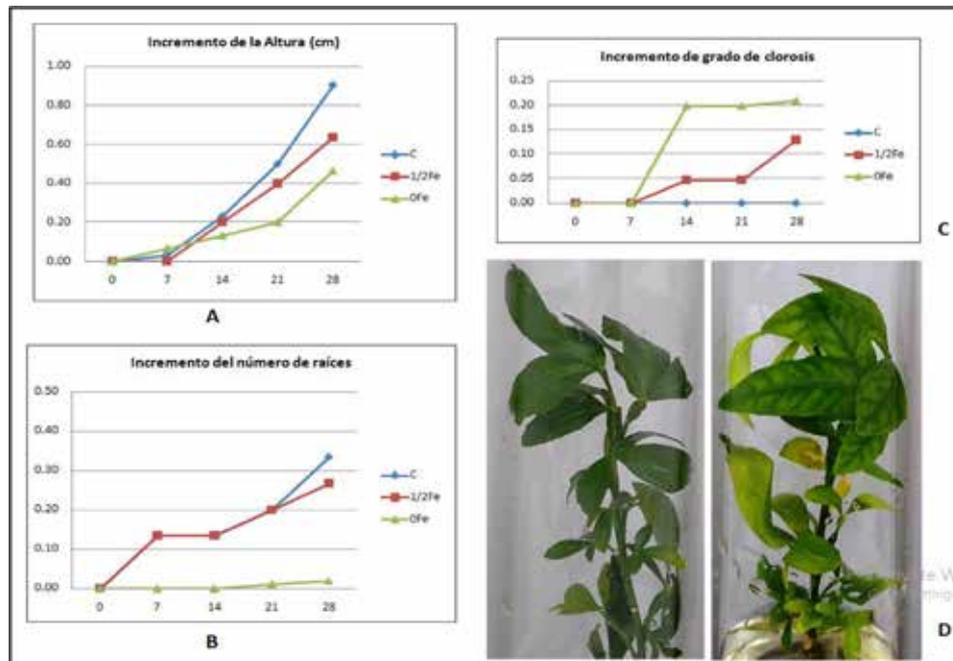


**Figura 3.** Índice de tolerancia relativo (ITR) de ocho caracteres morfofisiológicos: altura de la planta (AP), largo de la raíz (LR), número total de hojas (HT), necrosis de la hoja (NH), necrosis del ápice caulinar (NAC), oscurecimiento de la raíz (OR), necrosis del ápice radicular (NAR) y estrechamiento de las raíces (ER), evaluados en *Citrus macrophylla*. Letras diferentes corresponden a diferencias significativas (Test  $\chi^2$  de comparación de proporciones,  $p < 0.05$ ).

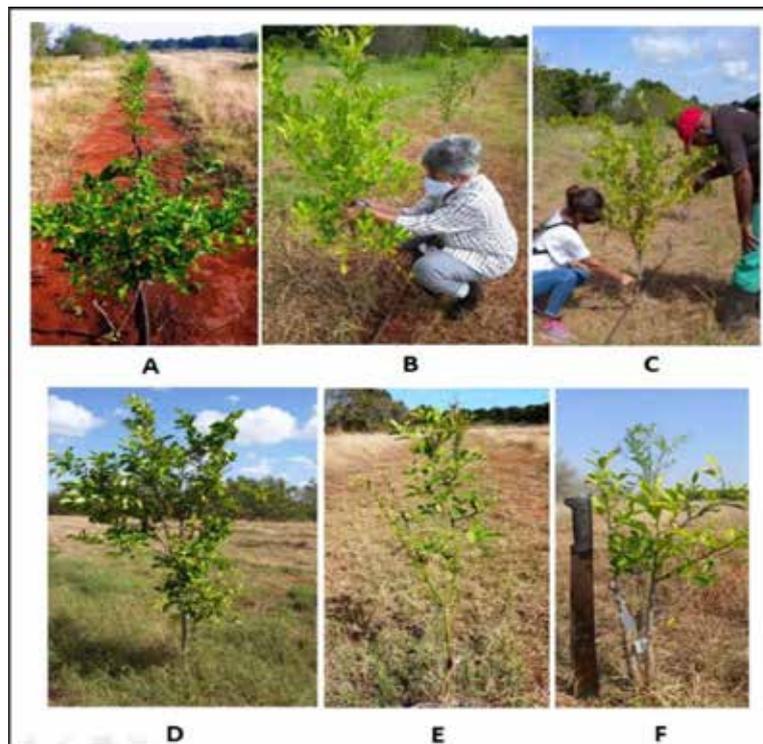
se generaron nuevos lotes injertando las líneas obtenidas. Esto permite acelerar su desarrollo y entrada en madurez reproductiva, para obtener líneas mutantes regeneradas a partir de semilla y evaluar el comportamiento de su sistema radicular pivotante. Por otra parte, es importante identificar si existen variantes con arquitectura reducida (menor altura, mayor relación D/A, menor largo promedio de entrenudos) pues estas son de interés para las plantaciones de alta densidad,

como una de las estrategias de la nueva citricultura frente al HLB.

En diciembre de 2020 se sembraron las primeras 39 líneas mutantes en parcela experimental J-10, de la UCTB “Félix Duque”, Jagüey Grande, Matanzas. A finales de 2022 dos líneas mantuvieron una mayor relación D/A, mientras que otras cuatro resultaron de interés por el acortamiento de los entrenudos. De ellas, una línea de citrange Carrizo resultó de interés por ambas carac-



**Figura 4.** Incremento de la altura de la planta (A), el número de raíces (B) y el grado de clorosis (C) en vitroplantas de citrumelo Swingle sometidas a estrés por déficit de hierro. (D) Clorosis en hojas de vitroplanta sometida a medio sin sales de hierro (0 Fe) (a la derecha) y planta control (a la izquierda).



**Figura 5.** Lotes 1, 2 y 3 de líneas mutantes sembradas en diciembre de 2020 en estación J-10, Jagüey Grande (A). Evaluaciones fitosanitarias (B) y morfológicas (C) en noviembre de 2021. Líneas mutantes de interés identificadas: *Citrus aurantium* de buen vigor y comportamiento fitosanitario (D), citrange Carrizo de buen vigor y comportamiento fitosanitario (E), citrange Carrizo de bajo porte y menor longitud de entrenudos (F).

terísticas (bajo porte y entrenudos más cortos) (figura 5). Estos caracteres deben seguirse monitoreando a lo largo del desarrollo vegetativo de las plantas. Desde el punto de vista fitopatológico, se sigue el comportamiento de cinco líneas que mantienen menor incidencia de plagas y menos síntomas de enfermedades.

## Conclusiones

El protocolo de radiomutagenesis *in vitro* basado en organogénesis adventicia permitió desarrollar líneas mutantes de cuatro protainjertos cítricos (citrumelo Swingle, *Citrus macrophylla*, *Citrus aurantium* y citrange Carrizo); aunque la eficiencia del mismo estuvo determinada por las diferencias entre genotipos. El esquema de selección *in vitro* frente a estrés hídrico permitió determinar las dosis selectivas de PEG-6000 para futuros esquemas de radiomutagénesis, así como identificar cuatro posibles descriptores (altura de la planta, necrosis foliar, necrosis del ápice radicular y estrechamiento radicular). En este trabajo se evaluó por primera vez un protocolo de selección *in vitro* de tolerancia a la alcalinidad, basado en un medio selectivo deficiente de hierro. La clorosis férrica parece ser buen descriptor de la respuesta *in vitro*. Finalmente, se identificaron dos líneas con mayor relación D/A, cuatro resultaron de interés por el acortamiento de los entrenudos, una de ellas de bajo porte y cinco con mejor vigor y comportamiento fitopatológico.

## Referencias bibliográficas

- [1]. KHARKWAL MC. History of plant mutation breeding and global impact of mutant varieties. In: Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience. Singapore: Springer, 2023. p. 25-55. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-16-9720-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-16-9720-3_2)
- [2]. GONZÁLEZ CEPERO MC, GUILLAMA ALONSO R, HORTA FERNÁNDEZ D, ÁLVAREZ GONZÁLEZ A, et. al. Main results of plant mutation induction for abiotic stress in Cuba. International Symposium on Plant Mutation Breeding and Biotechnology. FAO/IAEA. August 27-31, 2018. Vienna, Austria.
- [3]. ÁLVAREZ A, FUENTES JL, DEUS JE, et. al. Genetic Diversity analysis in rice mutants using isozyme and morphological markers. Cultivos Tropicales. 2000; 21(4): 39-44.
- [4]. FUENTES JL., CORNIDE MT, ÁLVAREZ A., et. al. Genetic diversity analysis of rice varieties (*Oryza sativa* L.) based on morphological, pedigree and DNA polymorphisms data. Plant Genetic Resources. 2005; 3(3): 353-359.
- [5]. FUENTES JL., SANTIAGO L, RODRÍGUEZ NN, et. al. Combining zygotic embryo culture and mutation induction to improve salinity tolerance in avocado. In: Induced mutations in Tropical Fruit Trees. IAEA TECDOC-1615. Vienna: IAEA, 2009. p. 71-82.
- [6]. ÁLVAREZ A, ALONSO A, ÁLVAREZ M, et. al. Metodología de radiomutagénesis y selección *in vitro* para la tolerancia a la sequía utilizando embriones cigóticos de aguacatero. CitriFrut. 2013; 30(2): 22-29.
- [7]. COTO O, RODRÍGUEZ NN, FUENTES JL; ÁLVAREZ A, et. al. Mutation-based breeding of avocado in Cuba: state of the art. In: Mutagenesis: exploring genetic diversity of crops. (Chapter 13). Wageningen Academic Publishers, 2014. p. 265-282.
- [8]. BEOZZO R, LOPES SA, PEDREIRA M, WULFF NA, et. al. Overview of citrus huanglongbing spread and management strategies in Brazil. Tropical plant pathology. 2020; 45: 251-264
- [9]. FEBLES GONZÁLEZ JM, SOMOZA CABRERA J, VEGA MB, et. al. Effects of climate change on soils of cattle regions from the southern karst plain Habana - Matanzas, Cuba. Cuban J. Agric. Sci. 2017, 51(1): 139-151.
- [10]. ÁLVAREZ A., MARTÍNEZ A, ZAMORA V, et. al. Comparación de dos protocolos de radiomutagénesis *in vitro* para el portainjertos cítrico citrumelo Swingle. Cultivos Tropicales. 2022; 43(1): 07.
- [11]. GONZÁLEZ CEPERO MC & MARTÍNEZ ROMERO A. Selección de mutantes de arroz de buen comportamiento agronómico en condiciones de bajo suministro de agua. Cultivos Tropicales. 2016; 37(1): 102-109.
- [12]. MARTÍNEZ CUENCA M.R., QUIÑONES A., FORNER GINER MA. Screening of 'King' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) × Poncirus trifoliata ((L.) Raf.) hybrids as citrus rootstocks tolerant to iron chlorosis. 2016. Scientia Horticulturae. 2016; 198: 61-69. doi: 10.1016/j.scienta.2015.10.038.
- [13]. GONZAGA DL, LATADO RR, TULMAN NA, PIO RM. Radiosensibilidad de dois tipos de propagulos de citros. Bragantia, Campinas. 2011; 70(1): 13-18.
- [14]. KUMAR K, GILL MIS, GOSAL SS. Somatic Embryogenesis, *in vitro* selection and plantlet regeneration for citrus improvement. In: Biotechnologies of crop improvement. Vol 1. 2018. p. 373-406.

**Recibido:** 23 de enero de 2023

**Aceptado:** 17 de febrero de 2023

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en la realización, ni la comunicación del presente trabajo.

**Credit / Conceptualización:** Alba Álvarez González. **Análisis formal:** Alba Álvarez González. **Investigación:** Alba Álvarez González, Livia Santiago Hernández, Sandra Carro Palacios, Victoria Zamora Rodríguez, Jorge R. Cueto Rodríguez, María Caridad González Cepero, Armando Chávez Ardanza, Alina Puente Sánchez. **Metodología:** Alba Álvarez González. **Supervisión:** Livia Santiago Hernández, Victoria Zamora Rodríguez. **Adquisición de fondos Administración de proyecto:** Alba Álvarez González. **Redacción – borrador original:** Alba Álvarez González. **Redacción – revisión y edición:** Alba Álvarez González, Victoria Zamora Rodríguez, Jorge R. Cueto Rodríguez, María Caridad González Cepero.

**Declaración de financiamientos:** Los trabajos fueron financiados a través del contrato de los proyectos ARCAL RLA/5/063 "Apoyar el Mejoramiento Genético de Subutilizados y otros cultivos importantes para el desarrollo agrícola sostenible en comunidades rurales", RLA/5/068 "Aumento del Rendimiento y del Potencial Comercial de los Cultivos de Importancia Económica" y del proyecto Ramal "Aplicación de tecnologías nucleares para la obtención de genotipos con mayor adaptación a los efectos del cambio climático en diferentes cultivos de importancia económica" de la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada. Desde 2020 está siendo financiado también por el Proyecto Empresarial del Grupo Agrícola de Cuba (GAG-2077) "Desarrollo y evaluación en condiciones de campo de líneas mutantes de portainjertos cítricos con tolerancia a estreses abióticos".