

**MANEJO DEL VIRUS DE LA HOJA AMARILLA (SUGARCANE YELLOW LEAF VIRUS, SCYLV) DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM OFFICINARUM*) MEDIANTE CULTIVO DE TEJIDOS Y EL USO DE AGENTES INDUCTORES DE RESISTENCIA SISTÉMICA ADQUIRIDA, SAR.**

Burbano, C.<sup>1</sup>; Garcés, F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL);

Campus Gustavo Galindo, Km. 30.5 vía Perimetral; apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador;

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones de la Caña de azúcar del Ecuador (CINCAE); Departamento de Fitopatología; Estación

Experimental: Km 49,6 Vía Durán – Tambo

Casilla Letra “S” Guayaquil-Ecuador;

Email: [rburbano@espol.edu.ec](mailto:rburbano@espol.edu.ec), [fgarces@cincae.org](mailto:fgarces@cincae.org)

**RESUMEN**

La presente investigación busca alternativas para el manejo del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (SCYLV) tanto para la obtención de semilla libres del virus y su posterior manejo para reducir las reinfecciones en campo a causa del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt); vector del virus. Para el efecto se planteó la aplicación de herramientas de cultivo de tejidos como son la extracción de meristemas, inducción de callos embriogénicos y la utilización del viricida Ribavirín; así como el uso del ácido salicílico, (AS) como elicitador en las respuestas de Resistencia Sistémica Adquirida (SAR). Adicionalmente, se utilizaron testigos de termoterapia y agua caliente. La menor incidencia del virus fue observada en las plantas tratadas con AS y en los explantes sometidos a la inducción de callos embriogénicos; mientras que los tratamientos sometidos a termoterapia y agua caliente mostraron los niveles más altos de incidencia. El ensayo de campo consistió en el estudio del efecto de la aplicación preventiva del insecticida sistémico Imidacloprid, alternado con Acefato y al mismo tiempo se utilizaron los inductores de SAR: AS y un Kit comercial (Releaf-Stoler Co.) en la reinfección de plantas meristemáticas con el SCYLV. La protección de las plantas meristemáticas, con la combinación de insecticidas e inductores de SAR, fue significativa, comparadas con el testigo a los 2, 4 y 8 meses después del transplante. Los diagnósticos virales fueron efectuados utilizando la técnica TBIA.

**Palabras clave:** Elicitador, Ácido Salicílico, SAR, reinfección.

**ABSTRACT**

The present research seeks alternatives for the management of the Sugar Cane Yellow Leaf Virus (SCYLV) to obtaining virus free seed and its subsequent management to reduce new infections in the field caused by the white aphid (*Melanaphis sacchari* Zehnt); the virus vector. Therefore we used tissue culture technique like extraction of meristemos, induction of embryogenics callus and the viricidal Ribavirín; and salicylic acid (SA) as elicitor in Systemic Acquired Resistance (SAR) responses. Additionally, we used thermotherapy and hot water as controls. The smaller incident of SCYLV was observed in the plants dealt with SA and in the explants submitted to the induction of embryogenics callus; while the plants submitted to thermotherapy and hot water showed the highest levels of incident. The trial of field consisted of the study of the effect of the preventive application of the systemic insecticide Imidacloprid, alternated with Acefato and al same time the inducers of SAR were utilized: SA and a commercial Kit (Releaf-Stoler Co.) in the new infection of meristematics plants with SCYLV. The protection of the meristematics plants, with the combination of insecticides and SAR inducers, was significant, compared with the control to the 2, 4 and 8 months after the transplant. The viral diagnosis were performed using TBIA technique.

## I. INTRODUCCIÓN

El virus de la hoja amarilla (Sugarcane Yellow Leaf Virus, SCYLV) de la caña de azúcar ha sido encontrado en numerosos países productores de caña de azúcar asociándole con pérdidas en el rendimiento [4] y en la actualidad está ampliamente distribuido en todo el mundo y en el Ecuador constituye un problema epidemiológico [6]; encontrándose incidencias promedios de 26.31% en los tres ingenios y con máximos niveles hasta del 99.3 % de infección y se ha encontrado distribuido en el 73.82% de los canteros evaluados [5].

Schenk et al, 2000, citado por Orellana [10]; menciona que el SCYLV es considerado un Polerovirus de la familia Luteoviridae, que posee un genoma compuesto por ARN de una sola banda de cinco a ocho Kb; y al igual que los demás virus de este grupo se encuentra limitado al floema. La proteína de la cápside tiene una masa molecular relativa de 27 KDa y no es glicosilada. Las partículas virales son de forma circular y poseen un diámetro de 22 a 24 nm.

Una alternativa que puede ser viable para la eliminación de virus que invaden el meristemo es la inducción de callos, la cual consiste en tratamiento de los explantes con sustancias como el 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) para permitir la inducción de callos embriogénicos. Los resultados de ensayos recientes demuestran que la dosis de 3 mg/L de 2,4-D induce un desarrollo adecuado del tamaño del callo [12] y [13].

Livingston y Toussaint et al citados por Parmessur y Sauntally [11], afirman que se ha reportado el uso de agentes antivirales para la eliminación de algunos virus. Estos compuestos fueron inicialmente utilizados en humanos y animales pero dado su amplio espectro se utilizaron luego para eliminar virus en plantas.

Ribavirín es un nucleósido sintético estructuralmente relacionado con pyrazofurina (pyrazomicycin) guanosina y xantosina que tiene actividad antiviral contra virus tanto de ADN como de ARN y aunque su mecanismo de acción no ha sido completamente elucidado, parece inhibir la síntesis de ADN y ARN y consecuentemente la síntesis de proteínas y la replicación viral. Comercialmente es vendido con los nombres de Virazole, Rebetol y Copegus [1].

Aunque se pueda eliminar el SCYLV por cultivo de meristemos [3] y [4], es probable que este material nuevamente se contamine en presencia del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt.), vector del virus [6] y [8] y bajo la presión de fuentes de inóculo con altos niveles de infección. El control de insectos vectores de virus en caña de azúcar comercialmente es antieconómico e inefectivo [13], pero puede ser útil cuando se trata de semilleros sembrados con plantas meristemáticas.

Por otro lado, una alternativa ante la falta de fuentes de resistencia genética puede ser la activación de la **resistencia sistémica adquirida (SAR)**, el cual es un mecanismo elicitado, que activa la expresión de proteínas de resistencia (PR protein) [7]. Recientemente se han registrado trabajos en banano, tomate y arroz, en los que han empleado agentes inductores de SAR, entre los que se encuentra el Acido Salicílico (AS), el Acibenzolar-S-Methyl [2] y [9] y compuestos elaborados con poliaminas y activadores de  $Ca^{2+}$  – Calmodulina, como el Kit Releaf (Stoler Co.) [15] y otros.

El actual trabajo de investigación tiene como objetivo la limpieza del virus SCYLV mediante la utilización de técnicas de cultivo de tejidos como la inducción de callos embriogénicos y la extracción de meristemos, sumada a la aplicación del inductor de resistencia sistémica adquirida,

ácido salicílico y el agente viricida Ribavirín. De igual forma se estudió el efecto de la aplicación preventiva de insecticidas sistémicos e inductores de SAR, en la re-infección de plantas meristemáticas con el SCYLV en condiciones de campo.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Ensayo en condiciones *in Vitro*

Para la ejecución del experimento, se garantizó que todo el material a ser ensayado esté infectado con el virus de la hoja amarilla y para ello se seleccionaron canteros cultivados con la variedad CR74-250, que fueron muestreados y enviados al laboratorio y diagnosticados mediante la prueba Tissue Blot Immunoassay (TBIA). Los tallos que fueron positivos para el virus fueron seleccionados para la extracción de yemas, las cuales fueron tratadas con agua corrida durante 48 horas y posteriormente con agua caliente a 51° C durante una hora.

#### 2.1.1. Termoterapia y cultivo de meristemos

Luego de que las plantas germinaron y desarrollaron hasta alcanzar los 5 o 7 cm se procedió a colocarlas en una cámara de termoterapia manteniéndolas a una temperatura de 41°C durante 15 días.

Los meristemos de 0.3 - 0.5 mm de longitud con 1 - 2 primordios fueron extraídos eliminando las vainas foliares y luego colocados en medio MSII en tubos de ensayo con 4 ml de medio de cultivo. Los meristemos así extraídos fueron mantenidos en penumbra durante 10 días y luego colocados en frascos con medio de cultivo nuevo. Se dejaron en agitación a 20 rpm por 30 días con 12 horas luz.día<sup>-1</sup> y una temperatura de 25-26°C.

Las plántulas fueron transferidas a un frasco tipo compota con medio MS II para la multiplicación enriquecido con citoquinina. Para la fase de rizogénesis las plántulas

fueron transferidas al medio MSIII enriquecido con Kinetina y el ácido Indolbutírico.

#### 2.1.2. Inducción y regeneración de callos embriogénicos

Los callos embriogénicos fueron inducidos a partir de los meristemos y posteriormente sembrados en frascos de compota que contenían medio de cultivo sólido enriquecido con 2,4 - D (2,4 Diclorofenoxiacético) en concentraciones de 3 mg.L<sup>-1</sup>, para estimular la formación de una masa no diferenciada de células con gran actividad mitótica.

Una vez establecidos y teniendo una masa celular de aproximadamente 1,5 cm de diámetro, los callos se colocaron en medios frescos y multiplicados a partir de éstos (figura 2), pero sin perder de vista el origen de cada uno de ellos rotulándolos adecuadamente. En este nuevo medio permanecieron por período aproximado de 45 días. Para lograr la regeneración de plantas a partir de callos, éstos fueron colocados en un medio sólido carente de 2,4-D. A partir de los 25 a 30 días se observaron puntos verdes y de 17 a 20 días los nuevos brotes estaban completamente diferenciados.

#### 2.1.3. Aplicación de Acido salicílico (AS) y Ribavirín.

Se evaluó la aplicación *in Vitro* de AS en concentraciones de 100 µM y del viricida Ribavirín a una concentración de 30 ppm agregados al medio de cultivo durante la fase de multiplicación en medio MSII.

## 2.2. Ensayo en condiciones de campo

### 2.2.1. Aplicación de Inductores SAR e Insecticidas Sistémicos

Se estudió el control del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt) en plantas meristemáticas de la variedad B76-78, mediante la aplicación preventiva del imidacloprid (Confidor) en dosis de 1ml.L<sup>-1</sup>

con una frecuencia mensual, alternado con el Acefato (Orthene) en concentraciones de 3 g.L<sup>-1</sup>. Al mismo tiempo se utilizó dos productos que actúan como inductores de SAR: el Ácido Salicílico (AS) en concentraciones de 0.5 mM, 1.0 mM y 1.5 mM y un Kit comercial (Releaf-Stoler Co.) al 0.8 %, 1.0 % y 1.2 % (v/v). Los tratamientos tanto de los insecticidas como de los inductores se efectuaron ocho días antes del trasplante y luego del mismo con una aplicación mensual hasta los ocho meses de edad del cultivo.

Para este propósito se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas en el cual, la parcela principal lo constituyeron bloques con aplicación y no aplicación de insecticida, mientras que la subparcela estuvo conformada por los tratamientos con la aplicación de los inductores SAR y sus respectivas concentraciones.

### 2.3. Toma de muestras y diagnóstico viral mediante TBIA.

Tanto para los ensayos in Vitro y en condiciones de campo, se efectuaron diagnósticos virales mediante la extracción de la primera hoja con lígula visible TVD (Top Visible Dewlap Leaf) y luego se realizó la prueba Tissue Blot Immunoassy (TBIA) para diagnosticar la presencia o ausencia del virus.

Las plántulas obtenidas in Vitro y mantenidas bajo invernadero fueron muestreadas una sola vez, mientras que para el ensayo de campo se efectuaron muestreos a los dos, cuatro y ocho meses después del trasplante.

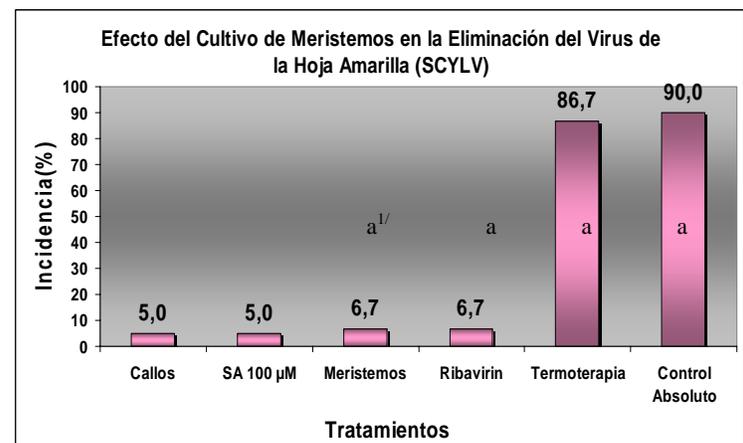
## III. Resultados y Discusión

### 3.1. Incidencia del patógeno

Luego del diagnóstico viral mediante la técnica TBIA, se observó que los tratamientos inducidos a callos embriogénicos y la aplicación del ácido salicílico 100µM, obtuvieron los más bajos

niveles de incidencia con el 5% en ambos casos, mientras que los explantes sometidos solamente a la extracción de meristemos y los tratados con el viricida Ribavirín mostraron incidencias de 6.7% en los dos casos.

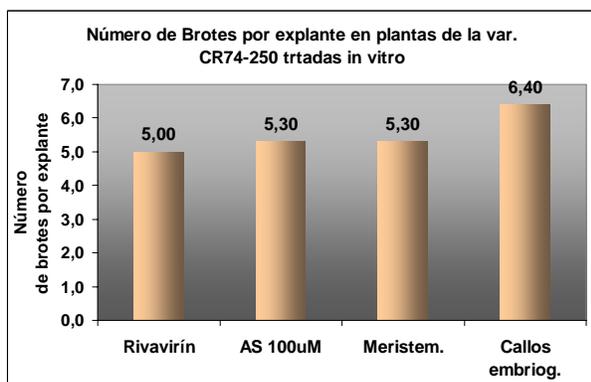
Por otra parte, los controles con solo termoterapia y el testigo absoluto sometido a tratamientos de agua caliente, mostraron incidencias del 86.7% y 90% respectivamente (gráfico 1).



**Gráfico 1.** Incidencia del virus SCYLV en plantas de la var. CR74-250 tratadas in Vitro, agua caliente y termoterapia. 1/ Tukey p= 0.05.

### 3.2. Número de brotes por explante

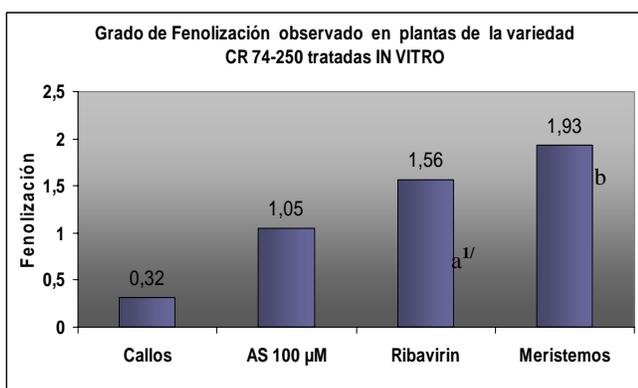
La cuantificación del número de brotes por explante efectuada durante la fase de multiplicación mostró a los callos embriogénicos con 6.4 brotes/explante, mientras que los tratamientos Ribavirín, meristemos y AS 100 µM conforman un segundo grupo en cuanto al número de brotes producidos con 5.0, 5.3, y 5.3 brotes/explante respectivamente (gráfico 2).



**Gráfico 2.** Número de brotes por explante observado para cada tratamiento. 1/ Tuye y  $p=0.05$ .

### 3.3. Grado de fenolización

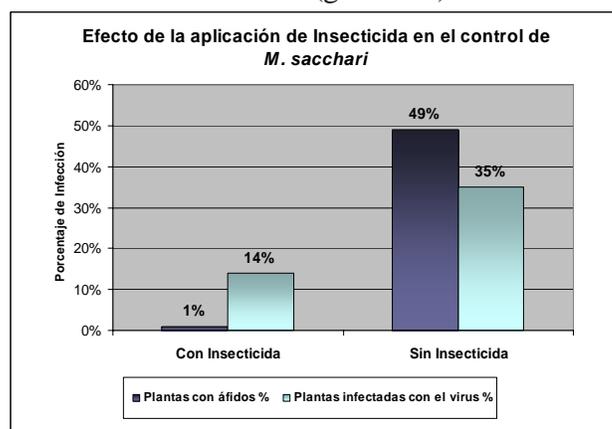
La variable fenolización mostró a los callos embriogénicos como el tratamiento que mostró menor producción de fenoles liberados al medio de cultivo de acuerdo a la coloración observada, mientras que los tratamientos Ribavirín y meristemos tuvieron los más altos niveles de fenolización. Por otra parte, el tratamiento AS 100  $\mu\text{M}$  tuvo un comportamiento intermedio a los anteriores tratamientos (gráfico 3).



**Gráfico 3.** Grado de fenolización observado para cada tratamiento. 1/ Tuye y  $p=0.05$ .

### 3.2. Acción de los insecticidas

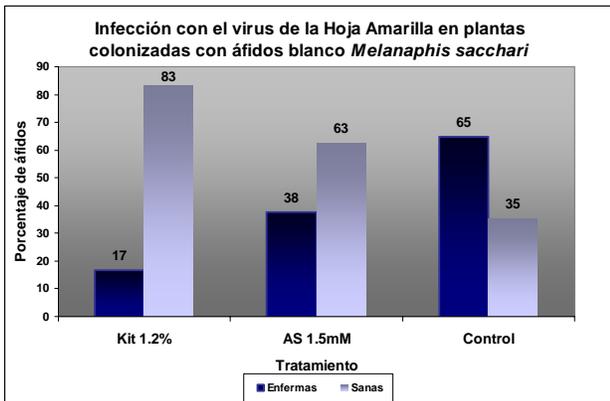
Se pudo observar que en todos los bloques que recibieron tratamiento insecticida tanto los niveles de infestación por *M. sacchari*, así como los niveles de infección por el virus de la hoja amarilla fueron menores. Así por ejemplo, en los lotes con tratamiento insecticida la infestación alcanzó el 1% y la incidencia llegó al 14%, mientras que en los bloques sin insecticida la infestación por el áfido llegó al 49% y el porcentaje de infección alcanzó el 35% (gráfico 4).



**Gráfico 4.** Efecto de la aplicación de Imidacloprid y Acefato, en el control de *Melanaphis sacchari* y en la infección de las plantas con SCYLV. 1/. Duncan  $p=0.05$ .

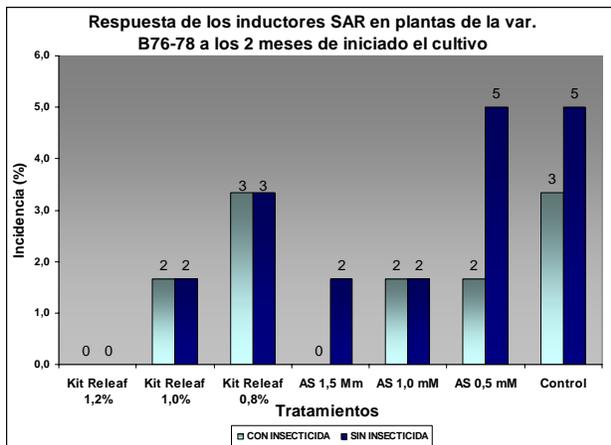
### 3.3. Efecto de los inductores SAR

Al registrar el porcentaje de plantas colonizadas y el porcentaje de plantas infectadas por el virus en cada uno de los tratamientos, se pudo observar el efecto de los inductores de resistencia sistémica AS (1.5 mM) y Kit Releaf (1.2%) comparados con el testigo sin inductor, al evitar la infección a pesar de la infestación por *M. sacchari*, lo que demuestra la eficiencia de estas moléculas activando los mecanismos de defensa de las plantas tratadas (gráfico 5).



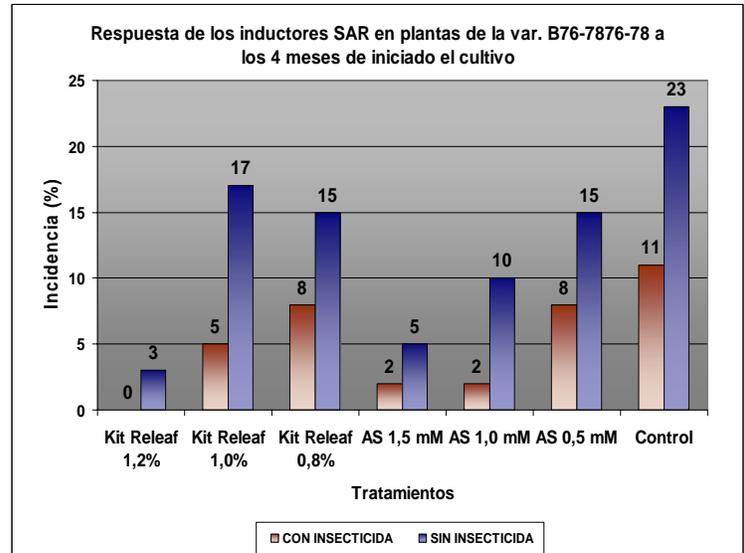
**Gráfico 5.** Porcentaje de colonización por *M. sacchari* y porcentaje de infección por SCYLV. 1/. Duncan p= 0.05.

A los dos meses de edad del cultivo, los tratamientos combinados de insecticida con el AS (1.5mM) y el kit Releaf (1.2% v/v), presentaron incidencias del 0 % en ambos tratamientos, comparados con el testigo sin tratamiento que alcanzó el 3% de incidencia (gráfico 6).



**Gráfico 6.** Incidencia de SCYLV a los dos meses de iniciado el cultivo en plantas var. B76-78. 1/. Duncan p= 0.05)

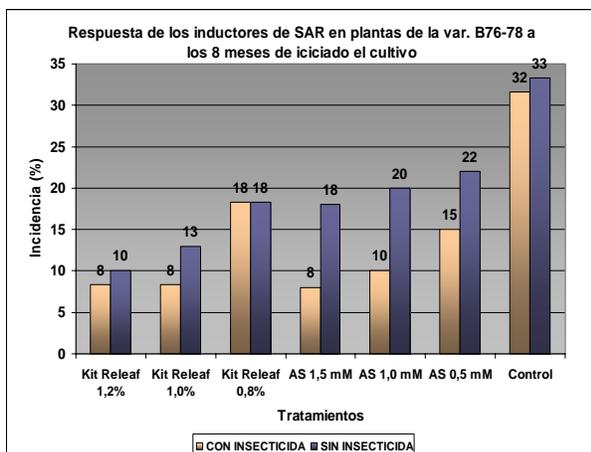
A los cuatro meses de edad del cultivo, los tratamientos combinados de insecticida con el AS (1.5mM) y el kit Releaf (1.2% v/v), presentaron incidencias del 0.1% y 1.2%, respectivamente, comparados con el testigo sin tratamiento con 23.3% (gráfico 7).



**Gráfico 7.** Incidencia de SCYLV a los cuatro meses de iniciado el cultivo en plantas de la variedad B76-78. 1/ Duncan p= 0.05.

A los ocho meses de edad del cultivo, los niveles aumentaron al 8% tanto para el Kit Releaf (1.2%) y el AS (1.5 mM), comparado con el testigo 33% (gráfico 8).

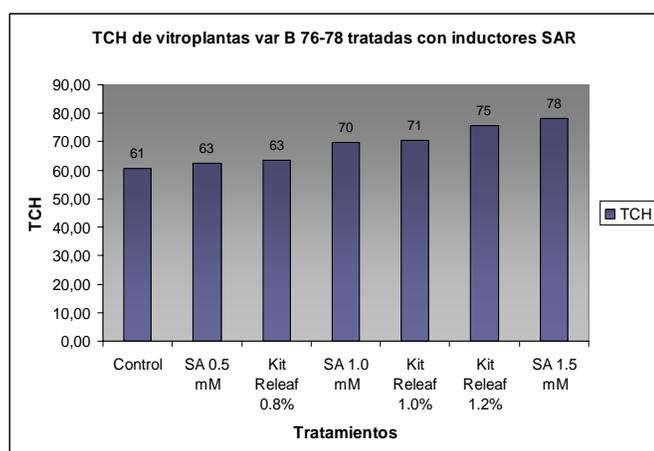
Es notorio además, que en todos los casos, los bloques no tratados con insecticida mostraron mayores porcentajes de infección por el virus, comparados con los bloques con tratamiento insecticida.



**Gráfico 8.** Incidencia de SCYLV a los ocho meses de edad del cultivo en plantas de la variedad B76-78. 1/. Duncan  $p= 0.05$ .

### 3.4. Efecto sobre la producción

El aumento en la producción de caña expresada en toneladas de caña por hectárea (TCH) fue significativo, en las unidades experimentales con aplicación de los inductores de resistencia, teniendo a los tratamientos con el Kit releaf 1.2% y AS 1.5 mM con tonelajes que alcanzaron las 75 y 78 TCH respectivamente (gráfico 9). El tonelaje más bajo fue observado en el control sin inductor con 61 TCH.

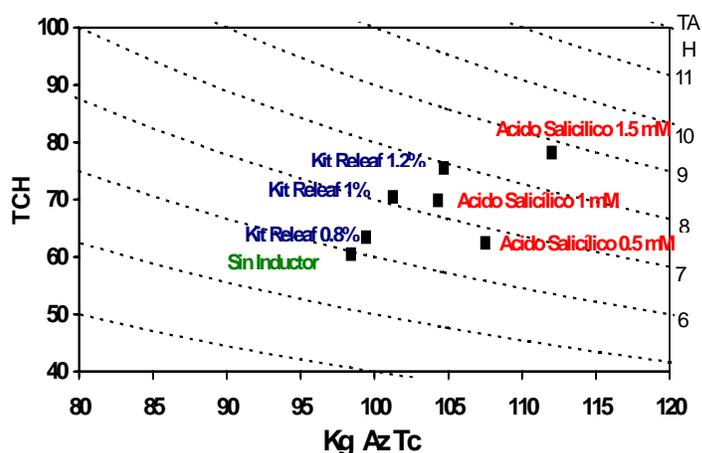


**Gráfico 9.** Efecto de los inductores SAR en el TCH (toneladas de caña por hectárea) en plantas meristemáticas var. B76-78. 1/. Duncan  $p= 0.05$ .

### 3.4. Efecto sobre el rendimiento

#### azucarero

Cuando se determinó el TCH y la calidad de los jugos, se evidenció que las mayores concentraciones de ambos productos presentaron los mayores TCH y producciones de azúcar, comparados con el testigo sin la aplicación de inductor. Al comparar las toneladas de azúcar por hectárea (TAH) del tratamiento con Acido salicílico a la mayor concentración con el testigo sin inductor se produjeron más TAH, asociadas con una menor infección de la enfermedad (gráfico 10).



**Gráfico 10.** Efecto indirecto de la aplicación de inductores de SAR, en la producción y rendimiento de plantas meristemáticas de la variedad B76-78.

## VI. CONCLUSIONES

Se pudo corroborar la eficiencia de la extracción de meristemas en la indexación del virus, así como la ineficiencia de la termoterapia y el tratamiento con agua caliente para lograr la limpieza viral; mientras que no hubo diferencias estadísticas al someter los explantes a la extracción de meristemas, inducción de callos embriogénicos y aplicación de los productos Ribvirín y AS.

Por otra parte, la inducción de callos embriogénicos surge como una alternativa importante para la obtención de plantas libres de virus, sumado al mayor número de brotes por explante obtenidos y la menor producción de fenoles lo que alarga la vida útil del medio de cultivo. Esto podría convertirla en una opción rentable si se trata de producciones comerciales de plantas in Vitro.

Aunque se observaron resultados promisorios, es necesario realizar otras evaluaciones en cuanto a frecuencias de aplicación, estabilidad de la resistencia y reacción de otras variedades, antes de su recomendación. La protección de las plantas meristemáticas, con la combinación de insecticidas e inductores SAR, fue significativa, luego del diagnósticos realizados con TBIA.

Hasta contar con variedades resistentes, una alternativa para prevenir la infección del SCYLV, consiste en la producción de semilla sana vía cultivo de meristemas y evitar la re-infección temprana de esta semilla en el campo.

## V. BIBLIOGRAFÍA

[1] AIDSinfo. 2004. Ribavirín. Hoja de datos técnicos (en línea). Consultado 15 may. 2005. Disponible en <http://aidsinfo.nih.gov>.

[2] Baysal, Ö., Soyly, EM y Soyly, S. 2003. Induction of Defence-Related Enzymes and Resistance by the Plant Activator Acibenzolar-S-Methyl in Tomato Seedlings Against Bacterial Canker Caused by *Clavibacter michiganensis*. *Plant Pathology*, vol 52, Issue 6, pp. 747-753. (en línea). Consultado el 13 mayo 2005. Disponible en [www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3059.2003.00936](http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3059.2003.00936).

[3] Chatenet, M.; Delage, C.; Ripolles, M.; Lockhart, B. And Rott, P. 2001. Detection of Sugarcane Yellow Leaf Virus in Quarantine and Production of Virus-free Sugarcane by Apical Meristem Culture (en línea) *Plant Diseases* 85:1177-1180. Consultado 26 agost. 2005. Disponible en <http://apsnet.org/pd/pdfs/2001/0830-01R.pdf>.

[4] Comstock, J. and R. A. Gilbert, A. 2001. Sugarcane Yellow Leaf Disease (en línea). Consultado el 23 may 2006. Disponible en [edis.ifas.ufl.edu/SC074](http://edis.ifas.ufl.edu/SC074).

[5] Garcés, F. et al. 2003. Diagnóstico serológico y molecular del virus del síndrome de la hoja amarilla (SCYLV), y las bacterias causantes del raquitismo de la soca *Leifsonia xyli* y la escaldadura de la hoja *Xantomonas albilineans*. Carta informativa Año 6. No 1. Ene. Feb. 2004. CINCAE.

[6] Garcés, F.; Orellana, E.; y Medina, R. 2004. Estudio de la transmisión del virus del síndrome de la hoja amarilla (SCYLV) y del virus del mosaico (SCMV) por insectos en caña de azúcar del Ecuador. Carta informativa Año 6. No 4. Jul. – Agost. 2004. CINCAE.

[7] Gozzo, F. 2004. Systemic Acquired Resistance in Crop Protection (en línea). *Outlooks on Pest Management* 10.1564 Consultado 2 jun. 2005. Disponible en [www.researchinformation.co.uk/pest/sample/15-1/11-Gozzo.pdf](http://www.researchinformation.co.uk/pest/sample/15-1/11-Gozzo.pdf).

[8] Lehrer, A; Schenck, S; Fitch, M; Moore, P and Komor, E. Distribution and Transmission of Sugarcane Yellow Leaf Virus (SCYLV) in Hawaii and its Elimination from Seedcane. 2004 (en línea) Hawaii Agriculture Research Center. Pathology Report 68. Consultado

- 02 jul 2005. Disponible en [www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf](http://www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf)
- [9] Momol, M.; Olson, S.; Funderburk, J. and Stavisky, J. 2004. Integrated Management of Tomato Spotted Wilt on Field-Grown Tomatoes (en línea). Plant Diseases 88:882-890. Consultado el 06 jul. 2005. Disponible en [199.86.26.56/pd/pdfs/2004/0608-01R.pdf](http://199.86.26.56/pd/pdfs/2004/0608-01R.pdf).
- [10] Orellana, E. 2004. Estudio de la transmisión del virus de la hoja amarilla (SCYLV) por insectos en caña de azúcar. Tesis Mag. Sc. Guayaquil, Ec. Universidad de Guayaquil. 45 p.
- [11] Parmessur, Y. y Saumtally, A. 2001. Elimination of Sugarcane Yellow Leaf Virus and Sugarcane Baciliform Virus by tissue culture (en línea). Consultado el 15 sep 2005. Disponible en <http://ncb.intnet.mu/moa/farc/amas2001/pdf/s42.pdf#search=scbv%20saumtally>.
- [12] Pérez, P. 1991. Cultivo de tejidos en la caña de azúcar In . Roca, W. y Mroginski, L. Eds. Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. CIAT Colombia. p. 543 – 575.
- [13] Schenck, S.; Lehrer, A.T. y Wu, K.K. 2001. Yellow Leaf Syndrome (en línea) Hawaii Agriculture Research Center. Pathology Report 68. Consultado 02 jul 2005. Disponible en [www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf](http://www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf)
- [14] Villalobos, I; Arias, O. 2002. Inducción y multiplicación de callos *in vitro* en tres cultivares comerciales de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) ( en línea). Consultado 13 abr. 2005. Disponible en [fbio.cu/files/pnac.pdf](http://fbio.cu/files/pnac.pdf).
- [15] Stoller Company. 2004. Kit Releaf. Hoja de datos técnicos.