

Capítulo 25

Cultivo de tejidos en la caña de azúcar

J. Pérez Ponce*

* Universidad Central de las Villas (UCLV), Las Villas, Cuba.

Introducción

La caña de azúcar pertenece al género *Saccharum*, tribu *Andropogoneae*, familia Gramineae. El género *Saccharum* tiene solo cinco especies: cuatro silvestres y una cultivada, *Saccharum officinarum* L., $2n = 80$. Las especie silvestres son:

- *Saccharum barber* (Jerw.). $2n = 40, 82, 92, 107, 116$ y 124 ; especies relativamente resistentes a las bajas temperaturas de las áreas subtropicales.
- *Saccharum spontaneum* L. Especie muy polimorfa desde el punto de vista citológico, sistemático y ecológico; $2n = 48, 56, 64, 76, 80, 96, 112$ y 128 . Tiene buena resistencia a muchas enfermedades y ha donado este carácter a muchas variedades comerciales.
- *Saccharum sinense* Roxb. y Jeswiet. Ocurre en estado silvestre y también como especie cultivable en áreas limitadas de China. Es muy estable genéticamente ($2n = 106$ a 120) y es típica de esta región.
- *Saccharum robustum* (Brand y Jerw.). Es la especie ancestral de *Saccharum officinarum* L. Citológicamente es muy heterogénea ($2n = 60, 70, 80, 82, 84, 90, 100, 118, 140, 144$ y 148). Esta especie, *S. officinarum* y *S. spontaneum* han dado origen, por cruzamiento, a las variedades comerciales.

El número básico de cromosomas del género *Saccharum* es $2n = 8$ a 10 , y por poliploidía se han formado las especies anteriormente descritas. La mayoría de las variedades comerciales tienen $2n = 80$ y $2n = 120$.

La alta poliploidía de las especies implicadas en el mejoramiento, la inestabilidad de los cromosomas debida a las aneuploidía (Price, 1962) y al mosaico cromosómico que se presenta en este cultivo hacen muy difíciles los estudios genéticos básicos, así como los trabajos de mejoramiento clásico; por ello se trabaja con grandes poblaciones segregantes, de modo que la eficiencia de muchos programas de cruzamiento, básicamente empíricos, es baja.

Hay un considerable número de variedades y clones, producto del trabajo de mejoramiento que se ha hecho en la caña de azúcar; aunque su comportamiento agrícola e industrial es bueno, tienen limitaciones como la susceptibilidad a algunas enfermedades, un alto porcentaje de floración, y la susceptibilidad a la salinidad y a la sequía. Un ejemplo es la alta floración que presentan en Cuba las variedades CP 52-43 y B 43-62; ésta

tuvo altos porcentajes en la producción pero debió ser eliminada por su alta susceptibilidad a la roya (*Puccinia melanocephala*); asimismo, por la susceptibilidad al carbón (*Ustilago scitaminea* Syd.) se han eliminado de la producción las variedades comerciales My 5450 y My 5715.

En estas variedades, la eliminación de los defectos que presentan por medio de las técnicas del cultivo in vitro se hace en forma más rápida y menos costosa que los métodos tradicionales de cruzamiento. La contribución del cultivo de tejidos y de células al mejoramiento genético de la caña de azúcar aparece en el Cuadro 25.1.

Cuadro 25.1. Resultados obtenidos en la caña de azúcar por las técnicas del cultivo in vitro.

Resultados	Fase en que se evaluó ^a	Referencia
Resistencia a enfermedades		
Enfermedad de Fiji	3	Krishnamurthi, 1974
	3	Krishnamurthi y Tlaskal, 1974
<i>Sclerospora sacchari</i> M.	3	Krishnamurthi, 1974
	3	Chen et al., 1979
<i>Helminthosporium sacchari</i>	2, 3 ^b	Heinz et al., 1977
	2, 3	Larkin y Scowcroft, 1981
	1, 3	Maribona et al., 1986
<i>Ustilago scitaminea</i>	3	Chen et al., 1978
	3	Piro y Chaguardieft, 1983
<i>Puccinia melanocephala</i>	3 ^b	Pérez Ponce et al., 1987 ^c
Virus del mosaico de la caña	3	Coleman, 1970
Características deseables		
Rendimiento alto	3 ^b	Balasundaran, 1981
	3	Liu y Chen 1978; 1979
	3	Liu, 1981
	3	Liu et al., 1983
	3	Liu y Hsieh, 1986
	3	Muller, 1985
Contenido de azúcar alto	3	Liu y Chen,
	3	Liu et al., 1983
	3	Liu y Hsieh, 1986
	3 ^b	Balasundaran, 1981
Floración ausente	3	Liu y Hsieh, 1986
	3	Pérez Ponce et al., 1987 ^c

a. 1 = callos; 2 = suspensiones; 3 = somaciones.

b. Empleo de mutagénicos.

c. Centro Agrícola, 1987, números 2 y 3. Algunas referencias no aparecen al final.

Variabilidad Somaclonal e Inducción de Mutaciones

La variabilidad somaclonal es el tema más discutido cuando se emplean las técnicas del cultivo in vitro en el mejoramiento genético. Esta variabilidad se encuentra en los tejidos somáticos o se produce en el propio cultivo in vitro. La primera está muy relacionada con los genotipos, y en la segunda se consideran dos causas: los componentes del medio y la edad de los cultivos in vitro. De los componentes del medio, el 2,4-D es el principal responsable de la variabilidad ya que él mismo se emplea en la caña como mutagénico convencional; esta auxina afecta el DNA, provoca mitosis irregular, proliferación de células y deformaciones, e incrementa el RNA ribosómico (Leopold, 1963).

En pocos trabajos realizados con cultivos in vitro se ha estudiado el origen de las mutaciones, es decir, si ocurren en el núcleo y cumplen las reglas mendelianas, o si se presentan en el citoplasma. Schutze (1984) hizo una revisión de 20 estudios: en 12 de ellos, la mutación ocurrió en el núcleo, en 5 en el citoplasma, y en los 3 restantes parecía ocurrir en el núcleo.

La variabilidad somaclonal (VS) puede aprovecharse solamente con las técnicas del cultivo in vitro. Se sabe además que la VS no puede explicar toda la variabilidad que se ha registrado en los cultivos in vitro.

En varias especies vegetales

Se han estudiado las causas de variación de los cultivos in vitro. Aho-lookwalia (1983), trabajando con *Lolium* spp. en estudios citológicos, encontró traslocaciones recíprocas, deleciones, inversiones, fragmentación de cromosomas, eliminación de cromosomas, y poliploidía. Concluyó este autor que las variaciones halladas no se podrían producir por el mejoramiento convencional y que se debieron a la inestabilidad cromosómica ocurrida en los repetidos subcultivos.

Se ha encontrado que el nivel de ploidía de los cultivos de células y tejidos es inestable. Autores como Gamborg y Shyluk (1981) informan que la inestabilidad cromosómica se presentó al inicio del cultivo y después se estabilizó, aunque el número final de cromosomas era distinto al de las plantas donantes.

En muchos cultivos de células y tejidos se han encontrado variaciones en el número de cromosomas. Un amplio estudio sobre este aspecto lo realizó Bayliss (1980); en siete especies (de las 53 estudiadas) no aparecieron

variaciones en poliploidía, aneuploidía, cambios estructurales o aberraciones mitóticas. En este mismo análisis los cultivos in vitro de 11 especies no produjeron variaciones cromosómicas.

Hay discrepancias entre los investigadores sobre la estabilidad cromosómica. En 20 trabajos hechos con tabaco, uno de ellos con suspensiones de 5 años y medio, no se informó sobre mutaciones. Hay también informes de la influencia del medio de cultivo empleado. Trabajos hechos en *Vicia faba* (Bayliss, 1980) muestran que al inicio del cultivo se forman líneas con distinto número n y que, según el medio, se estabilizan determinadas líneas. En *Pisum* se halló una gran influencia de las hormonas pues las citocininas estimularon la endomitosis en esa especie. En otros cultivos, el 2,4-D es responsable de los cambios cromosómicos, y hay trabajos en que han sido sólo las hormonas las responsables de los cambios. Yeoman y Forche (1980) trabajaron con guisantes en un medio que contenía 2,4-D y extracto de levadura, y encontraron células $2n$, $4n$ y $8n$, mientras que en un medio con sólo 2,4-D, todas las células fueron $2n$. El efecto de la levadura se duplicó con cinetina. La alta variabilidad, agregan, es efecto del 2,4-D más la cinetina.

En este laboratorio, donde se trabaja con el medio de Heinz (1969) que contiene 2,4-D y cinetina, se halló variabilidad fundamentalmente en los cambios clorofílicos (mutaciones puntuales). Los trabajos sobre medios hechos por Concepción et al. (1985) indicaron que el medio de Payan y Tarcon (1977) es superior para la formación de callos y la regeneración de plantas; este medio no tiene cinetina, y se ha observado que en él los cambios clorofílicos no se presentan o lo hacen con una frecuencia muy baja.

En caña de azúcar

En la caña de azúcar se han realizado trabajos de mejoramiento genético mediante cultivo in vitro y se considera que esta especie es ideal para ese objetivo. En 1986, Cruz halló que, a medida que aumentaban los subcultivos, se perdían cromosomas los cuales, de 82, en promedio, en la R_0 descendían a 30 en la R_8 ; se recomendó la R_2 (segunda generación) como la mejor para la regeneración. En este laboratorio, callos de 1 a 7 meses de ciertas variedades no presentaron diferencias en la variabilidad, la cual se determinó por los cambios clorofílicos y morfológicos.

Los estudios en los cuales se evalúa la variabilidad producida por los cultivos in vitro son aún más contradictorios. Feldemann (1984) analizó de 10 a 16 sistemas enzimáticos en plantas obtenidas de callos de 13 variedades y concluyó que la caña de azúcar es una planta estable en los cultivos in

vitro y que los cambios producidos se deben al rejuvenecimiento y a la sanidad de las plantas regeneradas. Iguales conclusiones extraen Kresovich et al. (1986) del estudio de 5000 plantas obtenidas de dos clones, es decir, los cambios producidos por el cultivo de tejidos no son frecuentes y se pueden confundir con alteraciones temporales o con las quimeras formadas en el proceso de diferenciación.

Por otra parte, Nagai y Schnell compararon en 1986 una población obtenida por cultivo de tejido con un híbrido F_2 de *Saccharum erianthus* respecto a sus caracteres agronómicos, y concluyeron que, para algunos caracteres, el cultivo de tejidos produjo tanta variabilidad como el cruzamiento.

Esta contradicción se debería a los genotipos que emplearon los investigadores, pues se ha encontrado que la estabilidad de los cultivos in vitro está influenciada por los genotipos y las auxinas. Wersuhn y Fritze (1985) señalan que deben seleccionarse los genotipos que se sometan a cultivo in vitro según la estabilidad de su cariotipo. Los procesos primarios responsables de la inestabilidad de los cariotipos son aún desconocidos.

Como en la primera generación obtenida por cruzamiento, las plantas muestran un comportamiento diferente al de la generación clonal; por tanto, las evaluaciones de la variabilidad de las plántulas dan valores sobrestimados.

Empleando la variabilidad producida por el cultivo in vitro, se han obtenido subclones interesantes de caña de azúcar, como se aprecia en el Cuadro 25.1. No obstante, los conocimientos adquiridos sobre los factores que influyen en la variabilidad —o sea, el medio de cultivo adecuado, la elección de órganos que produzcan variabilidad, el manejo de los cultivos in vitro y, por último, la calidad del genotipo para producir la variabilidad—indican que se debe emplear mutagénesis conjuntamente con el cultivo in vitro.

Se han empleado radiaciones gamma de modo muy limitado. Liu (1983) informó sobre tratamientos de 0 a 20 kr en callos en crecimiento y en la regeneración, pero no definió la influencia que tuvieron en la variabilidad. Se ha informado también del empleo de colchicina en suspensiones celulares, en dosis de 0.25 mg, para aumentar el número de cromosomas de 198 a 309 (Liu, 1983). Heinz y Mee (1970) obtuvieron también, con un procedimiento similar, 46 plantas variantes de las cuales 22 eran poliploides, 2 mixoploides y 22 diploides.

Los resultados obtenidos con el empleo de mutagénicos físicos y químicos se exponen a continuación. Cuando se irradiaron con dosis de 1000,

3000 y 5000 r de radiación gamma los callos en crecimiento de la variedad CP 52-43, se registró un aumento tanto de los cambios clorofilicos en las plantas in vitro, como de los caracteres morfológicos de las plantas que crecían en el campo y de algunos caracteres cuantitativos (Cuadro 25.2, Figura 25.1).

Cuadro 25.2. Influencia de las dosis de radiación sobre los cambios clorofilicos.

Tratamiento	Resultado (%) ^a	Significancia (ANOVA)
1000	56.7	**
3000	42.6	*
5000	57.1	**
Testigo	29.8	—

a. Cambios ocurridos por 100 plantas.

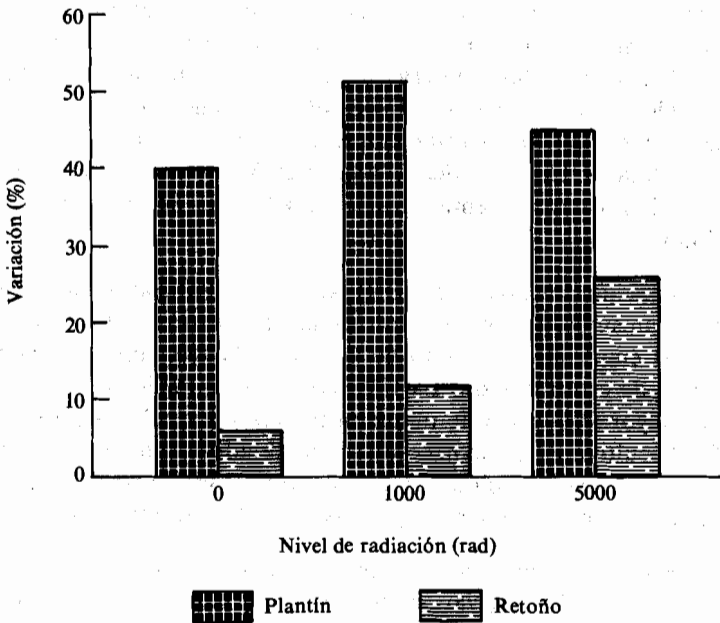


Figura 25.1. Variación morfológica total de una población irradiada (rayos gamma) de plantines derivados de cultivo de tejidos y de estacas de caña de azúcar; 0 rad=teji-do testigo.

Se demostró que en el medio Payan y Tarcon (1977) los tratamientos mutagénicos aumentaron la varibilidad, y que ésta se mantuvo de generación en generación. En estos tratamientos se seleccionaron además subclones de floración reducida de buenas características agroindustriales, los cuales se encuentran en fase de extensión en la producción.

Otro aspecto importante es el momento en que se debe aplicar el tratamiento mutagénico. Se recomienda, para la caña, hacer el tratamiento en la fase de regeneración, es decir, en punto verde. Para estudiar este aspecto, se trataron callos de la variedad My-5450, en fase de crecimiento y de regeneración, con dosis de 3000 r. Los callos tenían 1, 3 y 7 meses de edad. En la Figura 25.2 aparecen los resultados obtenidos: hay diferentes grados de radiosensibilidad en las plantas regeneradas, según la fase y la edad en que se encontraban los callos; además, la edad de los callos aumentó los cambios clorofilicos relacionados sobre todo con el albinismo, defecto éste que se presenta por alteraciones de los cloroplastos. Con respecto a los cambios en los caracteres morfológicos y cuantitativos, el tratamiento mutagénico incrementó la variabilidad cuando se irradiaron los callos en su fase de regeneración (Cuadros 25.3 y 25.4).

Como se esperaba, aumentó bastante el porcentaje de plantas quiméricas cuando se aplicó el tratamiento en la fase de regeneración. En general, es difícil seleccionar las quimeras, a diferencia de caracteres como la roya que se seleccionan eficientemente evaluándolos en el tallo de la caña. Los mutagénicos químicos han sido empleados también en callos y en suspensiones celulares. Como indica la Figura 25.3, la NaN_3 aplicada antes de realizar el explante aumenta la variabilidad en los cambios clorofilicos y morfológicos.

La radiación ultravioleta (UV) se había empleado solamente en microorganismos, pero ya se ha informado que se usó con éxito en plantas. Las dosis empleadas han sido de 1000 a 8000 erg/mm², con lámparas normales de esterilización. La UV activa los aminoácidos y causa, por tanto, mayor frecuencia de mutaciones puntuales; además, no afecta el medio de cultivo y éste no necesita ser cambiado. Un inconveniente de la UV es su poca penetración (1 mm) por lo cual se usa principalmente en suspensiones de células y protoplastos (Zelitch y Berlyn, 1982).

Las técnicas de separación electroforética de isoenzimas se han usado para identificar clones y variedades de caña, y determinar la variabilidad de los cultivos *in vitro*; se emplearán también como marcadores para seleccionar y como técnica de identificación de genotipos. Thom y Maretzki (1970) estudiaron isoenzimas peroxidadas y estererasas y demostraron que su diferente interrelación en la caña es de magnitud suficiente

Cultivo de tejidos en la caña de azúcar

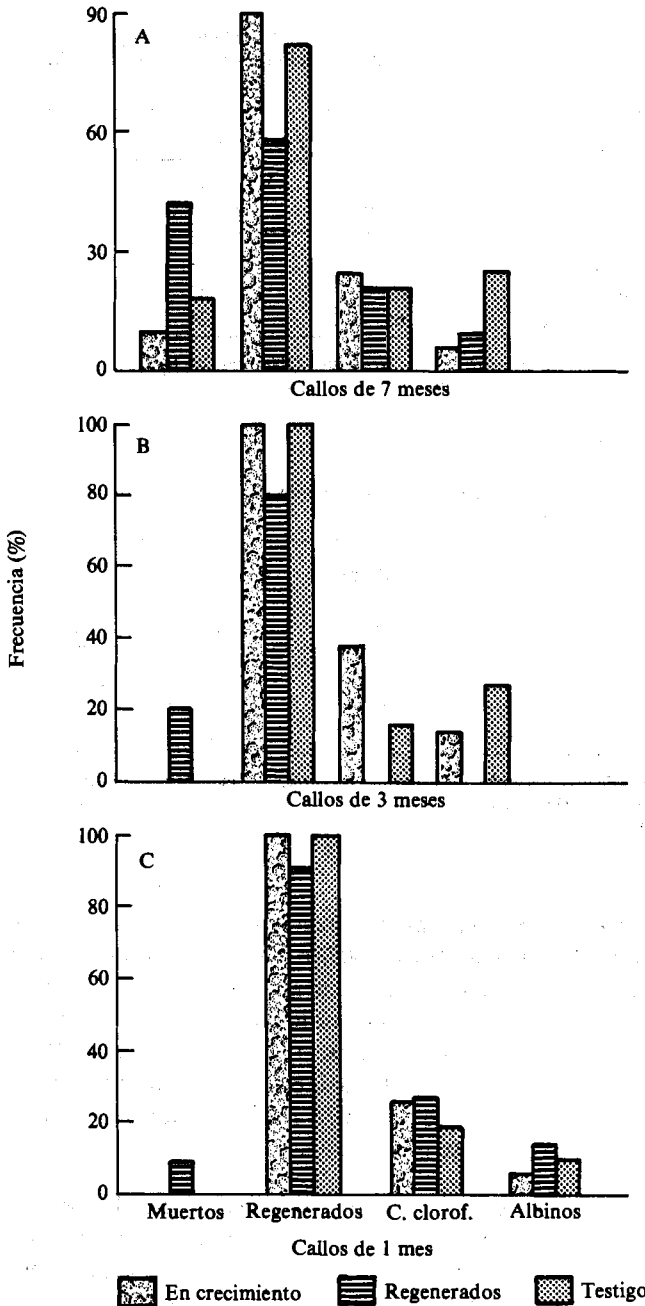


Figura 25.2. Influencia de la radiación gamma y de la edad de los callos en la regeneración y en la variabilidad de éstos; C. clorof. = cambios clorofílicos.

Cuadro 25.3. Frecuencia de las mutaciones causadas por diferentes tratamientos de radiación en la variedad de caña de azúcar My-5450.

Tratamiento ^a	Frecuencias		
	Mutantes por 100 plantas	Mutaciones por 100 plantas	Quimeras (%)
Callos NI	8	8	0.6
Callos IFC	27	35	1.2
Callos IFR	65	124	8.6

a. NI = sin irradiar; IFC = irradiados (3000 rad) en fase de crecimiento; IFR = irradiados (3000 rad) en fase de regeneración.

Cuadro 25.4. Efecto de la radiación gamma en los caracteres cuantitativos^a de la variedad My-5450.

Tratamiento ^b	Plantas evaluadas (no.)	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Ancho de la hoja (mm)	Brix (%)
Callos NI	173	159 (16)	28 (13)	45 (16)	17 (7)
Callos IFC	173	137 (16)	25 (16)	39 (19)	16 (2)
Callos IFR	163	135 (20)	23 (17)	33 (20)	18 (8)

a. Los valores de los caracteres son promedios; las cifras entre paréntesis son coeficientes de variación.
b. NI = sin irradiar; IFC = irradiados (3000 rad) en fase de crecimiento; IFR = irradiados (3000 rad) en fase de regeneración.

para que cada clon pueda caracterizarse por la variabilidad estudiada. Heinz y Mee (1971) encontraron 30% a 81% de variabilidad mediante las isoenzimas, y mucho mayor en los caracteres botánicos que en los agronómicos; estos autores consideran que los cambios se deben a mutaciones. Iguales resultados obtuvieron Frías et al. (1975), Liu (1981) y Ortiz y Quesada (1982) con respecto a la variabilidad producida por el cultivo in vitro. Feldemann (1984) no encontró ningún cambio enzimático en las plantas obtenidas del cultivo de tejidos.

En el laboratorio del autor se trataron 236 subclones de CP 52-43, y sólo hubo cambios en las peroxidasas de los subclones obtenidos de callos tratados con 1000 y 5000 r de radiación gamma. En las variedades B-4362 y My-5450 se encontraron cambios en las peroxidasas de plantas obtenidas mediante cultivo de tejidos. En estos trabajos no se encontró una relación bien definida entre los cambios isoenzimáticos y los caracteres que se

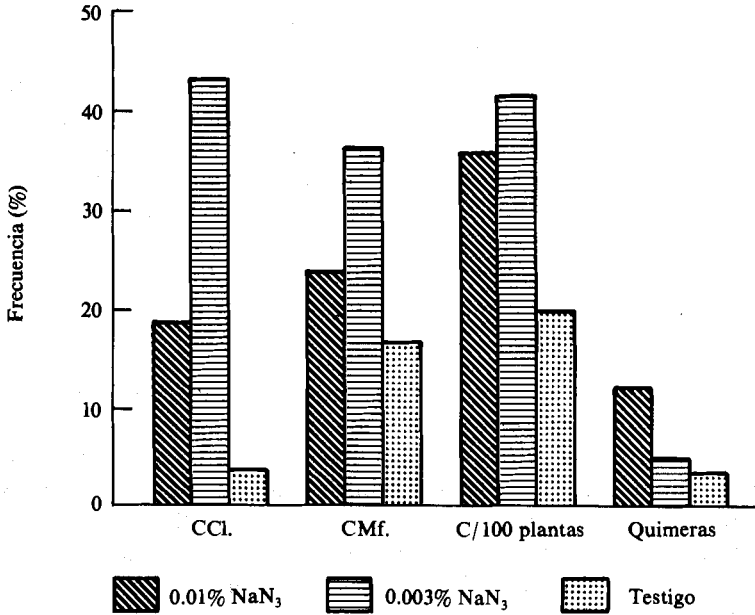


Figura 25.3. Efecto de la NaNO₃ en los callos, expresado como cambio clorofílico (CCI.) o morfológico (CMf.); C = cambios.

deseaba mejorar, como floración y resistencia a la roya y al carbón. En un extenso trabajo, Ruiz et al. (1986) encontraron una forma de isoperoxidasa asociada con la variación somaclonal de tolerancia al NaCl.

Micropropagación in Vitro

El coeficiente de multiplicación de la caña de azúcar es bajo y por ello la micropropagación in vitro de este cultivo es útil. Esta técnica se aplica en los bancos de germoplasma, en el intercambio de material genético, en la producción de plántulas para seleccionar, en la producción comercial de semillas, y en el saneamiento de clones para eliminar *Ustilago* sp., el mosaico, y la enfermedad del retoño achaparrado (Lee, 1986).

En la micropropagación se emplean meristemas apicales y axilares, aunque se prefieren los primeros porque están libres de contaminación y presentan menos problemas con la fenolización. En 1985, Screenivasan y Screenivasan colocaron explantes de meristemas apicales de 0.5 cm de

longitud, esterilizados con alcohol al 70% y con hipoclorito de calcio al 10%, en medio de White (1963) líquido; éste se suplementó con 2 mg/litro de glicina, 0.5 mg/litro de ácido giberélico, 1.0 mg/litro de ácido indolbutírico, 1.07 mg/litro de cinetina, 100 mg/litro de mioinositol, 10% de agua de coco, y 20 g/litro de sacarosa. Los meristemas se colocaron sobre papel filtro, y diariamente, o cada dos días, se movían para eliminar los fenoles acumulados alrededor de ellos. Después del crecimiento, los meristemas se pasaron al medio sólido MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con 2×10^{-3} mg/litro de ácido indolbutírico (Pérez Ponce y Jiménez, 1986). Los meristemas apicales fueron extraídos asépticamente e implantados de modo invertido en el medio.

A las 3 ó 4 semanas, los meristemas pasaron a otro medio para la inducción del ahijamiento: ésta requiere mayores niveles de citocininas en el medio de cultivo. Sauvaire y Galzy (1983) encontraron que añadiendo 6-bencil-aminopurina (6-BAP) en el medio de cultivo a una concentración de 0.10 mg/litro, o una combinación de ácido naftalenacético, ANA (0.025 mg/litro) y 6-BAP (0.624 mg/litro) se obtenía el mayor número de hijos. Hubo también una fuerte inhibición de la rizogénesis en presencia de 6-BAP y de ANA.

Los resultados obtenidos indican que se pueden obtener 10,000 individuos en un año a partir de un solo meristema. Mendre et al. (1983) consideran la posibilidad de obtener 200,000 plantas en 6 meses con un solo meristema.

En el laboratorio de la Universidad Central de Las Villas (UCLV) se estudió el efecto de las citocininas en el ahijamiento in vitro, y se obtuvieron los mejores resultados con la combinación de la cinetina y el 6-BAP, como se aprecia en el Cuadro 25.5.

Cuadro 25.5. Influencia de los medios de cultivo en el ahijamiento de la caña de azúcar in vitro.

Composición del medio ¹	Hijos por planta ²
1. MS + KIN	6.4 c
2. MS + 6-BAP (0.075 mg/litro) + KIN	9.64 b
3. MS + 6-BAP (0.10 mg/litro) + KIN	8.18 b
4. MS + 6-BAP (0.30 mg/litro) + KIN	10.94 a
5. MS + 6-BAP (0.10 mg/litro)	6.88 c

1. En el medio 5 no se añade cinetina (KIN).

2. Ahijamiento a las cuatro semanas. Las letras iguales no difieren significativamente para $P < 0.05$.

Según los resultados obtenidos se recomienda el medio MS, añadiéndole 6-BAP en las más altas concentraciones, si se quiere obtener plantas para continuar micropropagando in vitro. En el pase anterior al de ahijamiento, debe emplearse la dosis más baja de 6-BAP porque si el ahijamiento es muy elevado, las plantas son muy pequeñas y tienen dificultades para el enraizamiento y el pase a suelo.

Las plantas micropropagadas presentan dificultades para el enraizamiento debido al efecto inhibitorio de las citocininas; se requiere por tanto un medio que estimule en ellas un sistema radicular bastante fuerte que asegure un alto porcentaje de supervivencia en el suelo.

Cultivo de Células

Para el cultivo de células de la caña de azúcar se emplea cualquier parte de la planta: el meristema subapical, desde el primero al octavo internudo (Artschwager, 1925), las hojas jóvenes aún enrolladas, la inflorescencia antes de emerger, los meristemas apicales del tallo y de la raíz, y el parénquima medular (Liu, 1981). Se ha investigado la parte de la planta que más convendría emplear; para Liu (1981) la inflorescencia sin emerger es la mejor, por su alta capacidad de regeneración, pero no la recomienda en mejoramiento por su baja variabilidad; Kresovich (1985) comparó las hojas jóvenes y la inflorescencia y no encontró diferencias, pero recomienda las hojas jóvenes.

En la práctica, se recomiendan más las hojas jóvenes tomadas de tallos jóvenes que tengan un rápido y vigoroso crecimiento, y se toman 10 explantes por tallo de 0.5 a 1.0 cm de largo. Los meristemas subapicales no son recomendables porque se contaminan mucho y porque sufren fenolización. La manera de tomar un explante se ilustra en la Figura 25.4.

Se desinfectan los tallos jóvenes con cualquiera de los desinfectantes recomendados, aunque todos son poco eficientes para eliminar la contaminación que se encuentra entre las capas de hojas; por eso, lo más práctico es tomar la zona libre de contaminación. En 1983, González y Ballester encontraron que en los explantes de la hoja + 1 (según nomenclatura de Kwiper) la contaminación fue de un 45%, en los de la hoja 0 de 20%, y en los de la hoja -1 de 13%. Explantes de la hoja -1 extraídos asépticamente son los más adecuados para un rápido crecimiento de los callos.

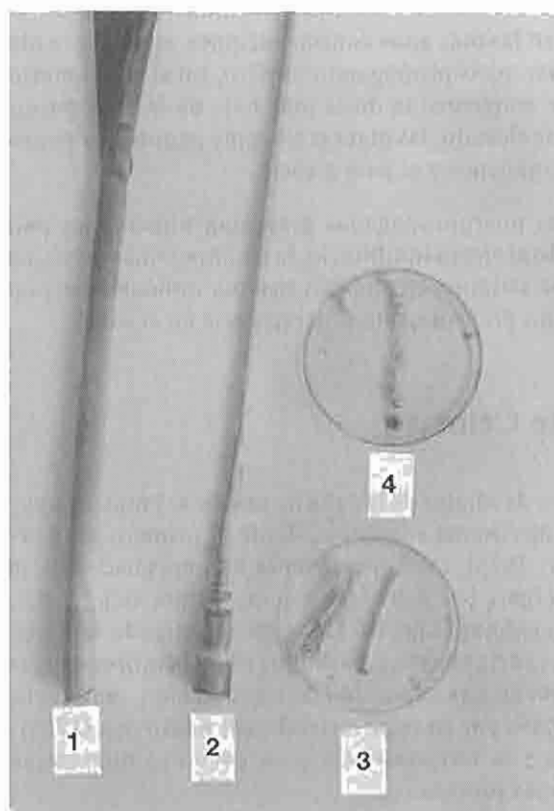


Figura 25.4. Modo de tomar un explante de hojas jóvenes en tallo joven de caña de azúcar; 1) Tallo joven en crecimiento activo. 2) Eliminar tejidos hasta la hoja +1. 3) Después de desinfectar el corte, eliminar las hojas 0 y -1. 4) Eliminar el último entrenudo, y tomar 10 explantes de 2 a 5 mm cada uno. Las hojas se identifican según Kwiiper.

Medio de cultivo

La formación de callos en la caña de azúcar es relativamente fácil. Se han empleado los siguientes medios de cultivo con buenos resultados: Heinz y Mee (1969), Murashige y Skoog (1962), White (1963), Heinz et al. (1977), y Liu (1983). Para determinar los mejores medios, el autor comparó el medio de Heinz y Mee (1969), el propuesto por la Hawaiian Sugar Planters Association (1977), y un medio recomendado para la micropropagación por Payan y Tarcon (1977). La composición de los tres medios aparece en el Cuadro 25.6.

Cuadro 25.6. Composición de los medios de cultivo ensayados en caña de azúcar.^a

Componentes	Medio 1 (Heinz y Mee, 1969)		Medio 2 (Payan y Tarcon, 1977)		Medio 3 (H.S.P.A.)	
	Para callo	Para DT	Para callo	Para DT	Para callo	Para DT
	Macroelementos	MS	MS	MS	MS	MS
Microelementos	MS	MS	MS	MS	MS	MS
Sacarosa (g/litro)	20	20	20	20	20	20
Mioinositol (mg/litro)	100	100	100	100	100	100
Acido nicotínico (mg/litro)	0.5	0.5				0.5
Glicina (mg/litro)	2.0	2.0				2.0
Tiamina (mg/litro)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Piridoxina (mg/litro)	0.5	0.5				0.5
AIA (mg/litro)	1.3	1.3				5.0
Cinetina (mg/litro)	0.84	0.84				2.0
2,4-D (mg/litro)	3.0		3.0	3.0		
Agua de coco (%)	10	10	18	18	10	10

a. H.S.P.A = de la Hawaiian Sugar Planters Association empleado desde 1977; DT = diferenciación de tejidos.

La diferente composición de los medios suscitó grandes deferencias en el comportamiento de los callos, como se aprecia en el Cuadro 25.7. Los resultados obtenidos señalan claramente la superioridad del medio de Payan y Tarcon (1977). Otra ventaja de este medio es que en él no se forman fenoles, característica ésta que depende también de la variedad que se cultiva.

En el medio de Heinz y Mee (1969), hasta un 100% de los explantes de determinadas variedades han producido fenoles; en cambio, en el medio de Payan y Tarcon (1977) ninguna variedad ha presentado problemas con los fenoles.

Cuadro 25.7. Comparación del efecto de tres medios de cultivo en la formación y crecimiento de callos de caña de azúcar.

Medio ¹	Explantes con callos (%) ²	Crecimiento del callo ³	Cultivos con fenoles (%)
Medio 1	100.0 a	2.17±0.09 a	0
Medio 2	81.8 b	1.87±0.12 b	8
Medio 3	73.3 c	1.27±0.07 c	50

1. Ver Cuadro 25.6.

2. Letras iguales no difieren significativamente para P = 0.05 según Duncan.

3. Evaluado según la escala de Santana (1982).

Para la formación del callo, el 2,4-D es el único ingrediente que debe manejarse en el medio de Payan y Tarcon según la variedad, y la dosis administrada oscila entre 2 y 5 mg/litro (Cuadro 25.6). Respecto a la diferenciación de tejidos en plántulas, el medio de Payan y Tarcon resultó también superior, como indica la Figura 25.5. En síntesis, el medio de Payan y Tarcon (1977) se recomienda más porque estimula un mayor desarrollo de los callos, no favorece la presencia de fenoles en el medio, aumenta el número de plantas obtenidas, y su composición es más simple.

Inducción de enraizamiento

El escaso enraizamiento de las plántulas ha sido señalado por diversos autores, y muchos han propuesto diversos métodos para mejorarlo como los tratamientos con bajas temperaturas, la poda de las hojas, el burbujeo constante en los medios líquidos. El método más eficiente y práctico es, no obstante, el uso de medios de cultivo capaces de asegurar el enraizamiento.

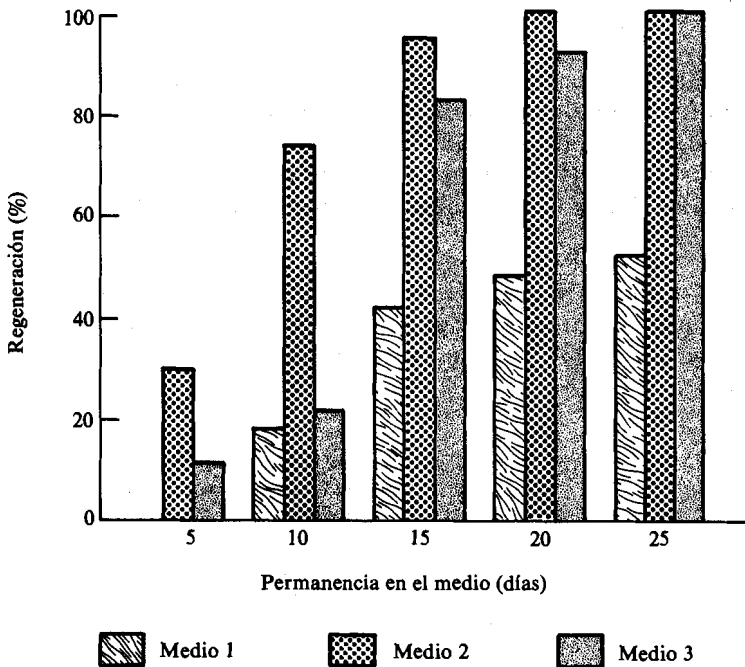


Figura 25.5. Influencia de distintos medios en la regeneración de plántulas de caña de azúcar. Medio 1 = Heinz y Mee; Medio 2 = Payan y Tarcon; Medio 3 = H.S.P.A. (ver Cuadro 25.6).