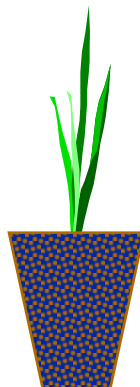
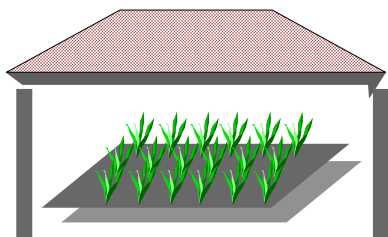


*Factores que afectan el desarrollo
de vitroplantas de Caña de Azúcar
en la fase adaptativa*



Dr.C. Rodobaldo Ortiz Pérez
Investigador Titular
Departamento de Genética

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Cuba

Septiembre
2000

***Corrección y edición.* María Mariana Pérez Jorge**
***Diseño y realización:* Yamila Isabel Díaz Bravo**

SOBRE LA PRESENTE EDICIÓN:

© Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), 2000

© Hilarión Rodobaldo Ortiz Pérez

ISBN: 959-7023-12-1

Ediciones INCA

**Gaveta postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba, CP 32 700**

INDICE

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| FACTORES QUE AFECTAN EL RESULTADO DE LA ACLIMATACIÓN | 5 |
| EJEMPLO DE LA INFLUENCIA DE ESOS FACTORES | 7 |
| I. Vitroplantas y el proceso <i>in vitro</i> | 7 |
| 1. Origen del material de partida | 7 |
| a) Influencia de la embriogénesis somática frente a la micropropagación convencional | 7 |
| 2. Componentes de los medios | 7 |
| a) Efecto de las concentraciones de reguladores de crecimiento en el medio | 7 |
| b) Efecto de las auxinas en el enraizamiento <i>in vitro</i> | 9 |
| 3. Estado de los medios | 9 |
| a) Influencia de diferentes tipos de medios en la fase previa a la salida para la aclimatación de las vitroplantas | 9 |
| 4. Manejo final del material <i>in vitro</i> | 11 |
| a) Separación o fraccionamiento del material según calibre en vitroplantas previo a la plantación en la aclimatación | 11 |
| b) Efecto de la calibración del material al iniciar la aclimatación | 11 |
| II. Sustratos | 12 |
| III. Condiciones climáticas | 20 |
| 1. Efecto de la época en el crecimiento y desarrollo de la vitroplanta en la adaptación | 20 |
| IV. Condiciones controladas | 21 |
| 1. Protección o tapado | 22 |
| a) Efecto del manejo y control de la iluminación | 22 |
| V. Manejo sobre el material en la adaptación | 23 |
| 1. Efectividad del uso de biofertilizantes | 23 |
| 2. Efectividad de reguladores de crecimiento | 27 |
| a) Imbibición de vitroplantas previo al trasplante a las cajuelas | 27 |
| b) Aplicación foliar del regulador | 29 |
| 3. Efecto de controladores biológicos | 29 |
| 4. Aplicación del deshije en el material | 31 |
| VI. Integración de una tecnología | 31 |
| REFERENCIAS | 33 |

Introducción

El descubrimiento de la micropropagación a través del cultivo *in vitro* de ápices meristemáticos ha proporcionado una solución altamente eficiente al problema planteado por la reproducción con alta calidad de los diferentes materiales. Hasta el presente, existen tres métodos de propagación *in vitro* de plántulas que son los siguientes: formación de meristemas adventicios, formación de yemas axilares y formación de embrioides (1).

Como regla general, se puede plantear que la micropropagación permite obtener altos volúmenes de plantas, empleando escaso material de partida y en breves períodos de tiempo. La calidad de la semilla de las vitroplantas está influenciada por tres factores fundamentales: características genéticas, características fitosanitarias y características fisiológicas. El método de la micropropagación *in vitro* cumple como ningún otro método existente con las exigencias de la producción de semillas. Durante el proceso *in vitro*, las plantas crecen bajo un ambiente con alta humedad relativa, baja intensidad luminosa, temperatura controlada y en muchas ocasiones constantes, escaso intercambio gaseoso y medios ricos en compuestos orgánicos, especialmente sacarosa. Estas condiciones provocan cambios en la morfología y la fisiología de las plantas, que las hacen diferir de las que crecen en invernaderos o el campo (2). Todos estos cambios provocan pérdidas que pueden ser muy importantes en la adaptación de las vitroplantas.

El proceso de adaptación de vitroplantas resulta una de las fases más importantes del proceso productivo de una biofábrica, pues es cuando las plántulas se adaptan a un medio nuevo no estéril, a menor porcentaje de humedad relativa, mayor intensidad de luz, crecimiento autotrófico, al cual deben responder con un crecimiento y desarrollo adecuado, y ser capaces posteriormente de dar la respuesta productiva esperada.

El cambio de las plantas a diferentes condiciones ambientales trae como consecuencia que estas sean muy susceptibles a diferentes estrés, debido a que ellas no han desarrollado o sus órganos no han sido adaptados a estas nuevas condiciones, por lo que necesitan responder a estas con nuevas características morfológicas y fisiológicas. Este es el caso de las micropropagadas que provienen de las condiciones *in vitro* a las casas de cristal o invernaderos y también a las condiciones de campo (3).

Pocos son los trabajos que recoge la literatura internacional con respecto a esta temática; no obstante, algunos autores (4, 5, 6) han hecho grandes aportes relacionados con el incremento de la intensidad de la luz previo a la salida *in vitro* de las vitroplantas, la fotoinhibición y sobre otros aspectos fisiológicos en la fase de adaptación. Murashige y Skoog (7) señalaron la importancia del sustrato (donde las plántulas *in vivo* debían desarrollarse como nueva forma de adaptación) rico en sustancias orgánicas, destacando que para mejorar el establecimiento *in vivo* de las plantas producidas *in vitro*, el enraizamiento debería tener lugar en un medio pobre en sales.

Se ha señalado que cuando se tiene un óptimo enraizamiento de las plántulas *in vitro*, estas se adaptan mejor a las condiciones *in vivo* (8). Otros autores (9) señalaron que el acondicionamiento de las plántulas *in vitro* al medio natural debe ser cuidadoso, pues la fisiología de estas plántulas cambia en estos procesos de adaptación.

Siguiendo esta misma temática, se ha señalado que en la transferencia de las plántulas *in vitro* al suelo (10), estas presentan diferencias morfológicas en la epidermis, destacándose que la ausencia de cera epicuticular causa una rápida disminución de la turgencia en el período de la aclimatación. Este efecto puede ser limitado por coberturas que impidan una acción directa de la luminosidad solar. Este mismo autor señaló que los excesos de agua en el sustrato pueden provocar la enfermedad del cuello de la raíz (originada por *Pythium infectam*) en las vitroplantas.

Durante los primeros diez días posteriores al trasplante, es necesario controlar adecuadamente los factores ambientales y prácticamente se requiere simular al inicio las condiciones *in vitro* y paulatinamente lograr la adaptación necesaria. Se sugiere que es necesario mantener una alta humedad relativa (11). Se creó en Yucatán un adaptador, donde por medio de una cortina de agua y extractores de forma automática se controla la humedad relativa y se mantiene una temperatura no crítica para las nuevas plántulas (12).

Por su parte, se ha informado el uso de micorrizas arbusculares en posturas de cítricos, haciéndose práctica la inoculación de posturas en la fase de semilleros y de vivero en diversas especies vegetales, siendo extendida esta práctica a las plantas micropropagadas como la uva (13), la piña (14, 15, 16), el aguacate (17), la fresa y otras especies (15, 18, 19, 20), obteniéndose en todos los casos vitroplantas bien desarrolladas con alto porcentaje de inoculación.

También determinadas sustancias como los antitranspirantes pueden ser utilizadas en la adaptación de vitroplantas al medio (21). Estas sustancias pueden regular el proceso transpiratorio en el traspaso del medio *in vitro* a un medio *in vivo* asegurando una mejor incorporación a esta nueva forma de vida.

En el mundo desarrollado es donde con más eficiencia se realizan estas técnicas de reproducción acelerada y es habitual el uso de sustratos certificados producidos en empresas especializadas que responden por la calidad de dicho sustrato, que en ocasiones son materiales inertes con una buena estructura esquelética, para ayudar a la conformación del cono donde se ubica el sistema radical de la plántula y las necesidades nutricionales se aplican con el agua de riego¹.

Como muy reducida pudiera también clasificarse la información que derivada de estudios nacionales se halla en la literatura. Entre estos, se destacan los trabajos realizados en el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) relacionados con diversos factores que afectan esta fase y los aportes del uso de la luz natural en las fases *in vitro* (22), los del Instituto de Bioplantas de Ciego de Avila relacionados con la protección y el manejo de las vitroplantas y los del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (16), donde se subrayaron las bondades de la zeolita como componente del sustrato para la adaptación de vitroplantas de piña. Por su parte, algunos autores a partir de la evaluación de diferentes sustratos contenidos en canaletas (23) destacaron

¹Pérez Ponce y Borroto, comunicación personal. 1997

el uso de la zeolita en su fórmula NEREA III más cachaza, como un sustrato efectivo para la adaptación de vitroplantas de caña de azúcar. Otros efectuaron diversos trabajos en la fase de adaptación de la Biofábrica de Caña de Azúcar en la provincia de Villa Clara (24), siendo los resultados más sobresalientes los correspondientes a la evaluación de diferentes tipos de sustratos. En tal sentido, pudo comprobarse el efecto beneficioso de la incorporación de la litonita en el sustrato, de manera que los mejores resultados en la altura y otras variables correspondieron a las combinaciones de esta con los abonos orgánicos. Una de las variables más importantes en la fase, el coeficiente de multiplicación, se duplicó, lo que equivale a contar ya a los 15-20 días de la siembra en la fase con más de un 50 % de plantas aptas para el deshije y la multiplicación del material.

Por otro lado, las bondades de la biofertilización con micorrizas son reconocidas en diferentes cultivos en el mundo; en particular las MVA modifican la arquitectura radical, ayudan a desarrollar un profuso sistema de raíces bien preparado para la absorción de los elementos del suelo (25, 26), también ayudan en alta medida a la absorción del agua (27) así como al aumento de la actividad hormonal y a la resistencia a enfermedades.

Resultados preliminares de estudios realizados (24) indicaron respuestas positivas, producto de la inclusión de biofertilizantes micorrizógenos y bacterianos en el sustrato para la adaptación de vitroplantas de caña de azúcar.

La aplicación efectiva de reguladores del crecimiento durante la fase de adaptación de vitroplantas se ha informado en piña y papa (2); en el primero de los casos fue evaluado el uso de auxinas y giberelinas, mientras que en el segundo los resultados satisfactorios fueron registrados con la aplicación de análogos de brasinoesteroides. En el caso de la caña de azúcar, se subraya la existencia de resultados preliminares muy alentadores con la aplicación foliar del análogo de brasinoesteroide BB-16 a las vitroplantas (24), destacándose un aumento en la altura de estas. Dada la importancia que tiene esta temática con la puesta en marcha de un gigantesco plan de producción de vitroplántulas en Cuba, se requiere de resultados científicos que garanticen el desarrollo de este trabajo básico para un cambio cualitativo y cuantitativo en la producción de materiales de alta calidad.

No obstante el rol determinante atribuido al sustrato en el proceso de adaptación, es este uno de los aspectos más deficientes en las biofábricas del país, dado por la carencia de un sustrato único de reconocida calidad y con la debida certificación, que garantice el adecuado crecimiento y desarrollo de las vitroplantas en un corto período de tiempo. Entre los sustratos utilizados en el país figuran el compost y la turba: el primero enriquecido con fertilizante químico y el segundo complementado con paja de arroz. En ambos, si bien las plantas logran adaptarse, su crecimiento y desarrollo son muy lentos, requiriendo en no pocos casos más días para poder ser liberadas.

La baja permeabilidad y escasa aireación de los sustratos para el normal crecimiento del sistema radical son además otras características indeseables que contribuyen en alta medida a incrementar los altos porcentajes de mortalidad (pérdidas) actualmente registrados en algunas biofábricas.

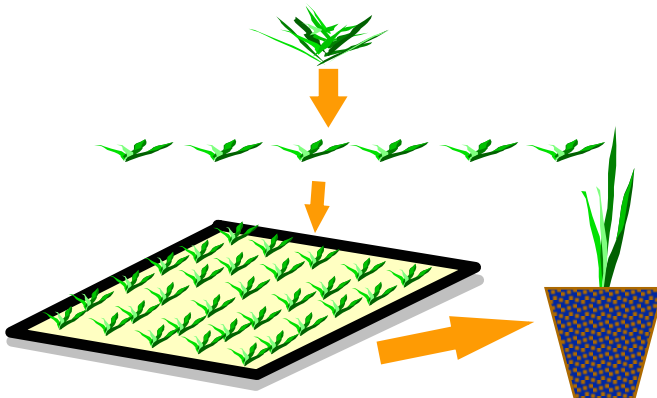
La porosidad excesiva de algunas cajuelas de poliespuma con baja densidad, constituye un segundo factor de importancia que repercute negativamente en los niveles de producción. Si bien en el caso de otros cultivos, como el tomate y tabaco con sistemas radicales menos agresivos, sus vitroplantas pueden ser extraídas con el cepellón íntegro y muy fácilmente, en el caso de la caña de azúcar la penetración del profuso y muy agresivo sistema radical en las paredes y fondo de los alvéolos dificulta su extracción, ocasionando pérdidas de cantidades considerables de vitroplantas o la desintegración del cepellón además del deterioro de las cajuelas.

Tales características del crecimiento y desarrollo del sistema radical de la caña de azúcar evidencian, por otro lado, lo insuficiente que pueden resultar las dimensiones de los alvéolos de las cajuelas actualmente utilizadas en las diferentes biofábricas del país, factor que indudablemente puede limitar el normal crecimiento y desarrollo de éste, así como puede conllevar a la necesidad de limitar el período de permanencia de las vitroplantas en la fase de adaptación.

Las ventajas de la micropropagación de permitir obtener altos volúmenes de plantas, empleando escaso material de partida en breves períodos de tiempo, se ve afectada si no se maneja con tecnología y cuidado la etapa adaptativa. Todos estos factores discutidos en su conjunto explican en alta medida los altos porcentajes de vitroplantas, que obtenidas en la fase *in vitro* no llegan a ser plantas en los bancos de semilla.

Los objetivos de la adaptación son obtener vitroplantas vigorosas, sanas, con baja variabilidad, adaptadas a las condiciones estresantes, logradas en un mínimo período de permanencia en el proceso y con bajo costo. Este proceso resulta la fase más importante del proceso productivo de la micropropagación; sin embargo, no se le ha prestado la debida atención, siendo objeto de esta recopilación llamar la atención de numerosos factores que pueden influir en esta fase sobre las vitroplantas de caña de azúcar micropropagadas. Se discuten los resultados de diversos grupos cubanos que han estudiado aspectos de este complicado proceso adaptativo.

Esta recopilación se utilizará para el curso de posgrado titulado “Tecnologías de avanzada para la adaptación de materiales obtenidos *in vitro*”.



FACTORES QUE AFECTAN EL RESULTADO DE LA ACLIMATACIÓN

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, un comité de expertos con especialistas de diversas ramas en septiembre de 1996, convocados para dar los pasos iniciales en la conformación de un proyecto de investigación-desarrollo sobre el proceso de adaptación de vitroplantas de caña de azúcar, detectó un grupo de posibles factores que afectan a las vitroplantas en el proceso adaptativo denominado “aclimatación”.

Entre ellos existe un conjunto de factores que se pueden considerar previos a la llegada de las vitroplantas a la fase adaptativa: en primer lugar su origen, es decir, tipo de especie, variedad o línea; muchas variedades se expresan de forma semejante en el proceso de reproducción, pero algunas requieren de medidas específicas para obtener resultados satisfactorios. Reviste igualmente importancia todo el manejo que se le da a la vitroplanta en el proceso *in vitro* y este marcará con énfasis el resultado final de la adaptación.

Ya en la fase, existen diversos factores que influyen como son: tipo de sustrato, época del año que determina condiciones específicas e influye en el resultado de las condiciones semi-controladas que se logren, manejo del material, el cual tiene un efecto directo en el resultado, así como otros factores, todo lo cual se observa a continuación, siendo el resultado final del trabajo en grupo, ejecutado y enriquecido con la experiencia ganada en la actividad investigativa realizada en estos últimos años.

Factores

- **Vitroplanta y el proceso *in vitro***
 - Especie, variedad o línea
 - Manejo *in vitro*, en especial fase de enraizamiento
 - Número de pases al material
 - Origen del material
 - Componentes del medio
 - Estado de los medios
 - Manejo final del material
- **Sustrato**
 - Carga nutricional, pH
 - Características físicas
 - Estado biológico
- **Condiciones climáticas**
 - Época
 - Precipitaciones
 - Temperatura
 - Humedad relativa

Fuerza del aire

- **Condiciones controladas**

Protección o tapado

Porcentaje interferencia de la luz

Altura de la protección

Luz artificial complementaria

Temperatura y humedad ambiental ajustadas

- **Riego**

Norma de riego

Frecuencia

Tamaño de la partícula

Calidad del riego

Calidad del agua

Pérdidas nutricionales

- **Alvéolos**

Dimensiones

Forma

Orificio de drenaje

Porosidad del material

Ubicación de la vitroplanta

Tipo de material

- **Manejo sobre el material**

Poda

Deshije

Reguladores de crecimiento

Biofertilizantes

Nutrientes

Bioplaguicidas

- **Estado fitosanitario**

Enfermedades

Patógenos en: sustrato, agua y ambiente.

EJEMPLO DE LA INFLUENCIA DE ESOS FACTORES

Se presentan un grupo de experiencias logradas con este objetivo en el país por diversos grupos investigativos.

I. Vitroplantas y el proceso *in vitro*

1. Origen del material de partida

a) Influencia de la embriogénesis somática frente a la micropropagación convencional

A partir de dos variedades de caña de azúcar, se compararon plántulas obtenidas por embriogénesis somática frente a las obtenidas por la micropropagación convencional de yemas axilares y ambas fueron comparadas con plántulas obtenidas por estacas de una sola yema; todas después de su adaptación fueron plantadas en suelo y a los 11 meses fueron comparadas.

Hay tendencia a favor de algún tipo de material; las estacas lograron en la primer variedad la mayor altura, pero la mitad del número de tallos con respecto a los dos sistemas de propagación *in vitro*. En la segunda variedad los embriones somáticos lograron la mayor altura con respecto a la micropropagación a partir de yemas, pero menor número de tallos; en todos los casos el índice de calidad no fue afectado. Estos resultados demuestran la influencia de la embriogénesis y la micropropagación, así como la respuesta diferenciada de los genotipos. En papa, existe un gran efecto según la procedencia del explante, siendo siempre superior el ápice a los esquejes (22).

Tabla 1. Plantas obtenidas de embriones somáticos y las producidas por yemas axilares o micropropagación convencional en el cultivo de la caña de azúcar (28)

| Variedad | Tipo | Altura (cm) | Diámetro (mm) | Número tallos | Brix | Índice madurez |
|-----------|---------------------|-------------|---------------|---------------|------|----------------|
| IBP87-100 | Estacas | 209 | 28.3 | 10.8 | 19.8 | 0.85 |
| | Micropropagación | 164 | 25.7 | 21.0 | 19.4 | 0.86 |
| | Embriones somáticos | 184 | 26.0 | 20.0 | 19.4 | 0.89 |
| IBP87-82 | Micropropagación | 199 | 27.8 | 20.1 | 19.6 | 0.89 |
| | Embriones somáticos | 239 | 27.0 | 14.9 | 20.0 | 0.91 |

2. Componentes de los medios

a) Efecto de las concentraciones de reguladores de crecimiento en el medio

Se evaluó la eficacia de los análogos de brasinoesteroides BB-6 y BB-16 en la composición de los medios de cultivo empleados para la multiplicación y el enraizamiento de vitroplantas de caña de azúcar. Ambas formulaciones fueron evaluadas en combinación y en sustitución de las hormonas utilizadas en ambos medios de cultivo.

Vitroplantas y el proceso *in vitro*

Para ello se utilizaron explantes de la variedad C 1051-73. Los tratamientos se distinguieron solo por la complementación o sustitución de la correspondiente hormona por los análogos de brasinoesteroides, manteniendo el resto de los componentes de acuerdo con el Instructivo técnico para la micropropagación de la caña sugerido (29). Todos los explantes fueron colocados en cámaras de crecimiento bajo la influencia de la luz natural. La presencia o no de raíces fue evaluada a los 7, 15 y 21 días de la implantación a partir de las observaciones visuales realizadas. El coeficiente de multiplicación fue determinado a los 21 días, para lo que se partió del conteo de hijos formados.

Tabla 2. Enraizamiento *in vitro*

| Tratamientos | Concentración (mg/L) | Presencia de raíces | | |
|---------------|-------------------------|---------------------|---------------|---------------|
| | | A los 7 días | A los 15 días | A los 30 días |
| AIA (control) | 1.3 | No | Inicio | PD |
| BB-6 | 0.01 | Inicio | PD | |
| | 0.03 | Inicio | PD | |
| | 0.05 | Inicio | PD | |
| BB-16 | 0.01 | Inicio | PD | |
| | 0.03 | Inicio | PD | |
| | 0.05 | Inicio | PD | |
| AIA + BB-6 | 1.3 + 0.01 | Inicio | PD | |
| | 1.3 + 0.03 | Inicio | PD | |
| | 1.3 + 0.05 | Inicio | PD | |
| AIA + BB-16 | 1.3 + 0.01 | Inicio | PD | |
| | 1.3 + 0.03 | Inicio | PD | |
| | 1.3 + 0.05 | Inicio | PD | |

Nota: Inicio- de los primordios de raíces, PD- Pleno desarrollo del sistema radical (30)

Los resultados expuestos en la Tabla 2 demuestran el efecto auxínico de ambos compuestos en el enraizamiento de las vitroplantas; las observaciones visuales realizadas permitieron apreciar a los siete días del estudio el inicio de los primeros primordios de raíces en las vitroplantas sembradas en los medios que contenían los análogos de brasinoesteroides, apreciándose ya a los 15 días el desarrollo de raíces normales en el 95 % de los explantes a diferencia del comportamiento mantenido por los explantes colocados en el medio con AIA, en cuyo caso las raíces alcanzaron su normal desarrollo a los 30 días en solo un 85 % de las vitroplantas. Tales resultados

Vitroplantas y el proceso *in vitro*

evidencian la alta actividad de ambos compuestos en el proceso de enraizamiento de las vitroplantas de caña de azúcar. Estas necesitaron un 50 % menos del tiempo en esta fase y dieron resultados semejantes a las del control en cuanto a la supervivencia y el crecimiento en la fase de adaptación, por lo que en el ciclo total se logró disminuir la estancia de las vitroplantas por 15 días. Por otro lado, tal y como se aprecia en la tabla, la presencia de raíces formadas no varió en función del tipo ni de la concentración del brasinoesteroide utilizado.

b) Efecto de las auxinas en el enraizamiento *in vitro*

En la fase de enraizamiento sobre vitroplantas de caña de azúcar de la variedad C87-51, se evaluaron diversas auxinas aplicadas al medio con una concentración de 1.3 mg/L sobre medio MS y fueron evaluadas las vitroplantas previo al trasplante al área de aclimatación con respecto a su porte o vigor y ya en la fase de adaptación, se evaluó el porcentaje de sobrevivencia que tuvieron al nivel de cajuela.

Como se observa en la Tabla 3, los tipos y concentraciones de auxinas en el medio de enraizamiento, afectan el tipo de vitroplanta que ingresa a la fase de aclimatación y esto también se refleja en el porcentaje de sobrevivencia que tienen las vitroplantas en esta importante fase, variando de menos del 50 % hasta el 94 %. Estos resultados demuestran la importancia de la composición del medio, no solo en el desarrollo de las vitroplantas *in vitro*, sino su capacidad para sobrevivir al plantarse en la fase adaptativa.

Tabla 3. Efecto de las auxinas en el enraizamiento *in vitro* en caña de azúcar variedad C87-51 (22)

| Medio de cultivos | Al iniciar la aclimatación | | | Fase aclimatación |
|----------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|
| | Altura (cm) | Longitud raíz (mm) | Peso de la raíz (mg) | Sobrevivencia (%) |
| MS | 2.45 | 16.1 | 129 | 81 |
| MS + 1,3 mg/l de AIA | 4.95 | 18.8 | 552 | 94 |
| MS + 1,3 mg/l de ANA | 3.25 | 9.8 | 79 | 53 |
| MS + 1,3 mg/l de AIB | 2.95 | 11.6 | 46 | 45 |

3. Estado de los medios

a) Influencia de diferentes tipos de medios en la fase previa a la salida para la aclimatación de las vitroplantas

En la Tabla 7 al evaluar las plántulas clasificadas como grandes (> 4 cm), con respecto a las medianas (2 a 4 cm) y pequeñas (< 2 cm) en las variedades C 87-51 y C 1051-73, se denotó en primer lugar que las primeras representan alrededor del 20 % de la población salida de la fase de enraizamiento, las cuales lograron una altura y desarrollo normal en menor tiempo, lo que posibilitó la reducción de su permanencia

Vitroplantas y el proceso *in vitro*

en la fase de adaptación en un 20 %. Las diferencias entre las plántulas clasificadas como medianas y pequeñas no fueron tan marcadas y, por tanto, se podrían manejar de conjunto en su trasplante.

Como es conocido el uso de medios líquidos con respecto a los sólidos tiene beneficios en su manipulación y en una ligera disminución de los costos. El uso de la doble capa (sobre el medio sólido, al pasar a la fase de enraizamiento, aplicar el medio líquido en el mismo frasco) tiene muchas ventajas de manipulación y ahorro significativo de frascos, tiempo, espacio y medios de cultivo; es significativo el ahorro de fuerza de trabajo, aumentando la eficiencia productiva. Con el empleo de la doble capa en caña se informa un aumento del 20 % del coeficiente de multiplicación.

Según los resultados de la Tabla 4, los diferentes tipos de medios utilizados tienen un efecto en el desarrollo de las vitroplantas a su llegada a la fase adaptativa; en todo momento el medio líquido presenta materiales *in vitro* de menor vigor y los mayores porcentajes de vitroplantas medias (2-4 cm) y plantas pequeñas (<2 cm). Aunque existen diferencias a través del medio sólido con el de doble capa, estas diferencias no son tan marcadas, por lo que merece la pena seguir evaluando la factibilidad del uso de la doble capa por sus beneficios económicos.

Tabla 4. Influencia del medio de cultivo en la fase *in vitro* en caña de azúcar (22)

| Tratamientos | Caracteres evaluados | | | Porcentaje de plantas por calibre (cm) | | |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------|------------------|--|------|------|
| | Longitud del tallo (cm) | Número de hijos | Número de raíces | >4 | 2-4 | <2 |
| 1. Medio sólido de enraizamiento | 4.83 | 2.26 | 6.08 | 36.6 | 48.3 | 15.1 |
| 2. Medio líquido de enraizamiento | 3.96 | 1.67 | 5.42 | 10.6 | 57.8 | 31.6 |
| 3. Doble capa | 4.61 | 4.24 | 5.69 | 31.2 | 48.1 | 20.7 |

Tabla 5. Efecto de los medios de cultivo *in vitro* en caña de azúcar (var IBP89-112) en la fase de adaptación de las vitroplantas (22)

| Tratamiento | Sobrevivencia (%) | Longitud del tallo (cm) |
|-----------------------|-------------------|-------------------------|
| Enraizamiento sólido | 95.1 | 12.14 |
| Enraizamiento líquido | 92.5 | 11.65 |
| Doble capa | 94.9 | 12.57 |

Vitroplantas y el proceso *in vitro*

Según los resultados de la Tabla 5, los tipos de medios no afectaron en alta medida el comportamiento de las vitroplantas en cuanto a su sobrevivencia y desarrollo final en la fase adaptativa; existe una tendencia en contra del medio líquido, por lo que es factible y económico utilizar en la última fase de enraizamiento la doble capa o el medio sólido.

4. Manejo final del material *in vitro*

a) Separación o fraccionamiento del material según calibre en vitroplantas previo a la plantación en la aclimatación

Al evaluar la importancia práctica de fraccionar el material *in vitro* previo a su traspaso a la fase de adaptación, se encontró que la separación de las vitroplantas obteniendo mayor número de propágulos para la plantación en la aclimatación tiene resultados altamente representativos en el desarrollo de esta etapa, obteniéndose altos coeficientes de multiplicación del material que proviene de la fase *in vitro*.

Tabla 6. Efecto del fraccionamiento del material según su calibre (22)

| Tratamientos | Supervivencia (%) | No. planta/nido | Longitud del tallo (cm) | Calidad del cepellón (grados) | Índice multiplicativo |
|---------------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Vitroplantas no separadas | 96.3 | 3.6 | 12.6 | 2.81 | -- |
| Vitroplantas separadas | 94.7 | 1.8 | 12.2 | 2.75 | 2 |

En este caso se logró duplicar el número de vitroplantas que pasan a la fase, las cuales no presentaron diferencias con las no separadas en supervivencia y desarrollo, y se demuestra el gran efecto económico que tiene el fraccionamiento del material al salir de la fase *in vitro*.

b) Efecto de la calibración del material al iniciar la aclimatación

Previo al trasplante, las vitroplantas fueron clasificadas según la altura en tres categorías; esta variable se destacó como un marcador preciso de su desarrollo (31). Se evaluó, además, el tiempo de permanencia de cada tratamiento para alcanzar el desarrollo necesario en la fase de adaptación.

En la Tabla 7, al evaluar las plántulas clasificadas como grandes (> 4 cm), con respecto a las medianas (2 a 4 cm) y pequeñas (< 2 cm) en las variedades C 87-51 y C 1051-73, se denotó en primer lugar que las primeras representan alrededor del 20 % de la población salida de la fase de enraizamiento, las cuales lograron una altura y desarrollo normal en menor tiempo, lo que posibilitó la reducción de su permanencia en la fase de adaptación en un 20 %. Las diferencias entre las plántulas clasificadas como medianas y pequeñas no fueron tan marcadas y, por tanto, se podrían manejar de conjunto en su trasplante.

Sustratos

Tabla 7. Diferenciación según tamaño de las vitroplantas que entran en fase de adaptación (32)

| Categorías | Variedad | % que representa | Permanencia (días) |
|-------------------|-----------|------------------|--------------------|
| Grandes (> 4 cm) | C 1051-73 | 23 | 24 |
| | C 87-51 | 21 | 26 |
| Medianas (2-4 cm) | C 1051-73 | 42 | 32 |
| | C 87-51 | 44 | 33 |
| Pequeñas (< 2 cm) | C 1051-73 | 35 | 35 |
| | C 87-51 | 35 | 36 |

Los resultados de la Tabla 8 son semejantes a los obtenidos en el ejemplo anterior: las plantas clasificadas como grandes a su entrada en la fase de adaptación mantienen resultados satisfactorios, siendo las medias muy superiores a las pequeñas; la calibración de las vitroplantas permite homogeneizar la población para extraerla de la aclimatación de acuerdo con el comportamiento de las plantas, todo lo cual demuestra el alto efecto que tiene el manejo de estas según la categoría de desarrollo.

Tabla 8. Evaluación en la fase de adaptación de las vitroplantas según la calibración del material a su salida de la fase *in vitro* (22)

| Tratamiento | Supervivencia (%) | Longitud del tallo (cm) | Calidad del cepellón (grados) |
|-------------|-------------------|-------------------------|-------------------------------|
| >4 cm | 97.30 | 13.56 | 2.94 |
| 2- 4cm | 94.93 | 12.12 | 2.83 |
| <2 cm | 89.50 | 10.75 | 2.59 |

Efectos parecidos se han informado en plátano y papa (22); en el caso del cultivo del plátano, los efectos son más contrastantes en las diferentes categorías. En ese caso, las clasificadas como pequeñas presentaron un bajo porcentaje de supervivencia, lo que impide directamente su uso en la fase adaptativa.

II. Sustratos

Este factor reviste una importancia muy marcada en el desarrollo de las vitroplantas, todo lo cual se presenta por un estudio integral realizado por un grupo de investigadores del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.

Como testigo se utilizó el compost al 100 % en un caso y la turba al 100 % en otro caso. Las diferentes combinaciones aparecen en la Tabla 9; como elemento central en la composición de los sustratos evaluados en este ejemplo fue incluida la zeolita en su

Sustratos

forma litonita (Tabla 10) por su adecuado "efecto reserva", además de la mejora que produce en la aireación de las plantas al disminuir la compactación del sustrato. Para el desarrollo de los estudios fueron tomadas vitroplantas de las variedades C 8751 y C 1051-73. En el primer experimento a los 20 días del trasplante fueron hechas mediciones de altura a 30 vitroplantas por variante de sustrato en estudio, realizándose esta desde la base hasta el último *dewlap* visible. Además, fue hecho el conteo de ahijamiento para el cálculo del índice de multiplicación. Para la estimación de este último, fue dividida la población total de hijos por cepellones entre el número de cepellones muestreados.

A los 45 días del trasplante en el estudio 1, fueron tomadas las vitroplantas para las evaluaciones de: altura de las vitroplantas, longitud de la lámina de la hoja +1, ancho de la lámina de la hoja +1, masa fresca y masa seca foliar.

En el resto de los estudios 2 y 3, a los 30 días se evaluó la altura de 30 vitroplantas por cada tratamiento, utilizando 25 vitroplantas/tratamiento. En todos los estudios se evaluó el tiempo de permanencia de cada tratamiento en la fase de adaptación según su desarrollo.

Tabla 9. Combinaciones volumétricas de los sustratos evaluados (31)

| Tratamientos | Estudio 1 Biofábrica Villa Clara (julio). Componentes del sustrato (%) | | | |
|---|--|---------|----------|---------|
| | Humus | Cachaza | Litonita | Compost |
| 1 | 100 | - | - | - |
| 2 | - | 100 | - | - |
| 3 | 65 | - | 35 | - |
| 4 | - | 65 | 35 | - |
| 5 | 40 | - | 60 | - |
| 6 | - | 40 | 60 | - |
| 7 | - | - | 35 | 65 |
| 8 | - | - | 60 | 40 |
| Testigo | - | - | - | 100 |
| Estudio 2 Biofábrica Villa Clara (Septiembre). Componentes del sustrato (%) | | | | |
| 1 | - | - | 100 | - |
| 2 | - | 29 | 71 | - |
| 3 | - | 33 | 67 | - |
| 4 | - | 40 | 60 | - |
| 5 | - | 50 | 50 | - |
| 6 | - | 67 | 33 | - |
| 7 | - | 100 | - | - |
| Testigo | - | - | - | 100 |

Sustratos

Estudio 3 Biofábrica Pinar del Río (noviembre). Componentes del sustrato (%)

| Tratamientos | Humus | Cachaza | Litonita | Compost |
|--------------|-------|---------|----------|---------|
| 1 | - | 40 | 60 | - |
| Testigo | - | - | - | 100 |

Tabla 10 Composición de la litonita

| Contenido mínimo de nutrientes garantizado (kg.t ⁻¹) | Granulometría | 1-2 mm |
|--|---------------|---------------------------------|
| N total | 1.5 | Densidad 0.9 g.cm ⁻³ |
| P ₂ O ₅ | 0.9 | Retención de agua 50 % |
| K ₂ O | 8.3 | pH 7.6 |

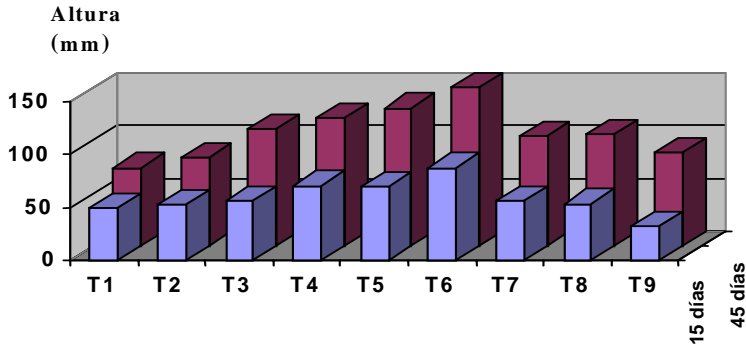
Oligoelementos: hierro, cobre, molibdeno, manganeso, zinc y boro, según datos del distribuidor cubano

La altura de las vitroplantas medida a los 15 y 45 días en el estudio 1, evidenció la existencia de un efecto importante de la composición del sustrato (Figura 1) en el comportamiento de las vitroplantas; aquí los sustratos orgánicos al 100 % (cachaza, humus y compost) estuvieron siempre muy por debajo de las mezclas con litonita. En tal sentido, el mayor efecto correspondió a las combinaciones de los sustratos con la litonita en las que las vitroplantas alcanzaron las alturas mayores, significativamente superiores a la altura correspondiente a las vitroplantas crecidas en el sustrato compuesto por el compost utilizado como testigo (T9) y superiores además a las alturas correspondientes de las vitroplantas crecidas en los sustratos compuestos por humus (100 %) (T1) y cachaza (100 %) (T2).

Entre las combinaciones de humus, cachaza y compost con litonita, sobresalió por la altura de las vitroplantas a los 15 y 45 días la combinación de cachaza con litonita a razón de 40-60 % (T6), con valores medio en ambas mediciones significativamente superiores al resto. Las vitroplantas crecidas en dicho sustrato superaron en más del 80 y 150 % la altura registrada en el testigo a los 15 y 45 días respectivamente, lo que evidencia un crecimiento más rápido de estas en la combinación de cachaza con litonita.

En el sustrato compuesto por cachaza más litonita (40-60 %), las vitroplantas alcanzaron a los 15 días una altura (86.00 mm) superior a la registrada en el sustrato testigo a los 45 días (74.47 mm), comportamiento que favorece considerablemente la reducción del período de permanencia de estas en la fase de adaptación, con el consiguiente aumento en el potencial de producción de las biofábricas. La combinación cachaza con litonita 40-60 % se distinguió igualmente por el aumento en la altura de los 15 a los 45 días.

Figura 1. Altura de las vitroplantas a los 15 y 45 días en el estudio 1 (31)



La longitud y el ancho de la lámina de la hoja+1 presentaron resultados muy similares a los anteriormente expuestos con respecto a la altura de las vitroplantas, de tal forma que la mayor longitud y el mayor ancho de la lámina correspondieron a las vitroplantas crecidas en el sustrato compuesto por cachaza más litonita a razón de 40-60 %, cuyos valores medio resultaron significativamente superiores al resto, duplicando prácticamente los valores de ambas variables registradas en el testigo (Figuras 2 y 3).

Figura 2. Longitud de la lámina a los 45 días (31)

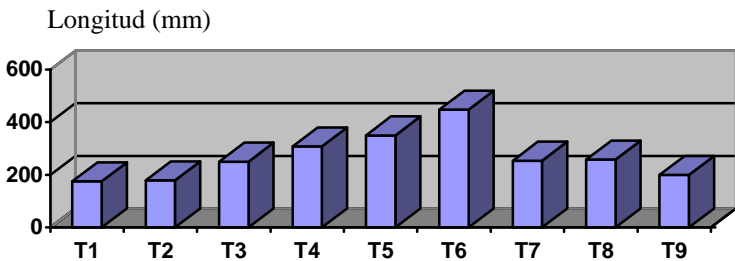
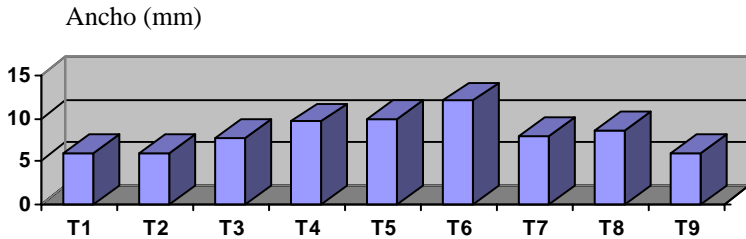


Figura 3. Ancho de la lámina a los 45 días (31)



La masa fresca y masa seca foliar a los 45 días (Figuras 4 y 5) guardaron una relación muy estrecha con la altura de las vitroplantas y longitud y ancho de la lámina de la hoja. Así, en esta variable se distinguieron igualmente los sustratos con litonita con valores de masa fresca y masa seca foliar significativamente superiores a los sustratos con humus (100 %), cachaza (100 %) y compost (100 %).

Figura 4. Masa fresca a los 45 días (31)

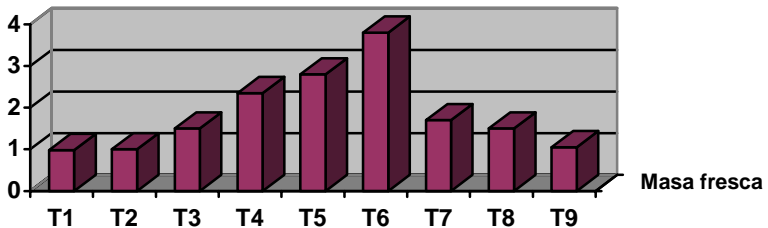
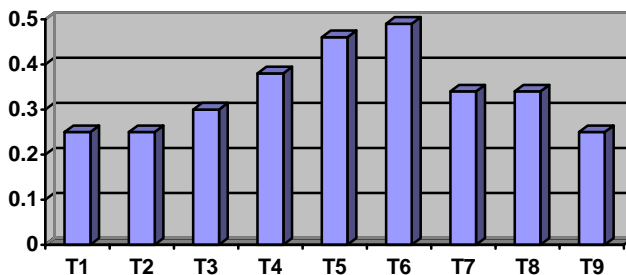


Figura 5. Masa seca foliar a los 45 días (31)



Sustratos

Al valorar de forma integral las variables evaluadas, se observa una correspondencia entre la altura de las vitroplantas y su vigor general, lo que queda demostrado al valorar la asociación de esta con respecto al resto de las variables (Tabla 11); la altura a los 15 y 45 días correlacionó de forma fuerte con todos los parámetros que componen como ella el vigor general de la planta, lo que posibilitó utilizarla como un marcador del desarrollo de las vitroplantas en el resto de los estudios que se presentan.

Tabla 11. Asociación de las variables evaluadas con respecto a la altura (r)

| Altura de la planta | Hoja+1 | | Número de hijos | Masa foliar | |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------------|-------|
| | Longitud | Ancho | | Fresca | Seca |
| 15 días | 0.93* | 0.92* | 0.78* | 0.94* | 0.92* |
| 45 días | 0.98* | 0.96* | 0.80* | 0.98* | 0.95* |

Significativo a $P < 0.05$ (31)

En la Tabla 12 se resume el resultado del sustrato cachaza + litonita con respecto a los sustratos orgánicos utilizados en los tres estudios ejecutados en las Biofábricas de Villa Clara y Pinar del Río (Estudios 1 al 3).

Tabla 12. Altura de las vitroplantas en los diversos experimentos ejecutados en las biofábricas (31)

| Experimento | Biofábrica | Tratamientos | Altura (mm) |
|-------------|---------------|-------------------|-------------|
| 1 | Villa Clara | Cachaza+Litonita | 147 |
| | | Testigo (compost) | 74 |
| | | Cachaza (100 %) | 71 |
| | | Humus (100 %) | 57 |
| 2 | Villa Clara | Cachaza+Litonita | 130 |
| | | Testigo (compost) | 65 |
| 3 | Pinar del Río | Cachaza+Litonita | 68 |
| | | Testigo(turba) | 44 |

Como se puede apreciar, la altura de las vitroplantas marcó en cada experimento realizado la existencia de un efecto importante de la composición del sustrato en el comportamiento de las vitroplantas; aquí los sustratos orgánicos al 100 % (cachaza, humus y compost) estuvieron siempre muy por debajo de las mezclas con litonita. Los sustratos utilizados como testigos en las Biofábricas de Villa Clara y Pinar del Río (compost y turba al 100 % respectivamente) presentaron problemas con el desarrollo de las plántulas. La turba presentó además un índice de mortalidad de consideración,

Sustratos

principal problema confrontado en la Biofábrica de Pinar del Río (más del 40 % de mortalidad). Los resultados del primer estudio fueron corroborados en los dos estudios siguientes. Por otro lado, se observó una disminución considerable en el crecimiento de las vitroplantas sembradas en julio respecto a las sembradas en noviembre, comportamiento en general característico del cultivo de la caña de azúcar en estos meses. En tanto, la mortalidad de plántulas que se presentaba en el sustrato turba fue totalmente resuelta con el nuevo sustrato (cachaza+litonita). Se ha destacado el uso en canaletas de la zeolita en su fórmula NEREA III (23) parecida en sus propiedades a la litonita, utilizada como apropiada para el crecimiento de las vitroplantas.

La baja permeabilidad y escasa aireación de los sustratos orgánicos para el normal crecimiento del sistema radical son posiblemente otras características indeseables que contribuyen en alta medida a incrementar los altos porcentajes de mortalidad (pérdidas), actualmente registrados en algunas biofábricas.

En los dos estudios donde se evaluó el coeficiente de multiplicación, la mezcla cachaza+litonita dio los mejores resultados con coeficientes multiplicativos muy superiores al testigo (Tabla 13). En el primer caso duplicó al testigo, lo que equivale a contar ya a los 15-20 días con más de un 50 % de plantas aptas para el deshije y la multiplicación del material. Esto se logró con siembras en julio. Aún cuando el segundo estudio se inició a finales de septiembre los valores registrados en el coeficiente de multiplicación del sustrato cachaza + litonita fueron superiores al testigo que no presentó ahijamiento. Estos valores aún cuando fueron inferiores a los registrados en el estudio realizado en julio, permitieron corroborar el efecto positivo de la combinación cachaza más litonita en el ahijamiento de las vitroplantas. Tal reducción en dichos valores se halla evidentemente relacionada con el reconocido efecto de las condiciones climáticas en el desarrollo de la caña. También se han informado índices multiplicativos muy satisfactorios (23) al usar sobre canaletas la cachaza y la zeolita de forma mezclada.

Estos resultados evidenciaron la posible explotación práctica del ahijamiento en la fase de adaptación para la reproducción acelerada de la caña de azúcar, lo que se evidencia en un aumento sustancial del potencial productivo de las biofábricas con un mínimo de costo.

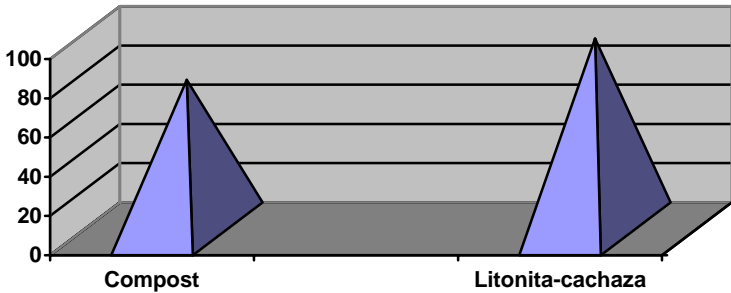
Tabla 13. Coeficiente multiplicación de los experimentos ejecutados en la Biofábrica de Villa Clara (31)

| Experimento | Fecha | Tratamiento | Coeficiente |
|-------------|---------|-------------------|-------------|
| 1 | 4/7/96 | Cachaza+Litonita | 3.2 |
| | | Testigo (compost) | 1.3 |
| 2 | 23/9/96 | Cachaza+Litonita | 0.6 |
| | | Testigo (compost) | 0 |

Sustratos

En la Figura 6 se presenta la comparación del desarrollo de los hijos obtenidos de la mezcla cachaza + litonita, deshidados a los 20 días de sus plantas madres en el estudio 1, con respecto a las plantas madres desarrolladas en el sustrato orgánico compost. Se denota que los hijos con solo 25 días de desarrollo sobrepasaron en un 45 % a las plantas madres en el sustrato orgánico con 45 días de desarrollo.

Figura 6. Altura de los hijos en litonita-cachaza a los 25 días y de las plantas madres en el compost (31)



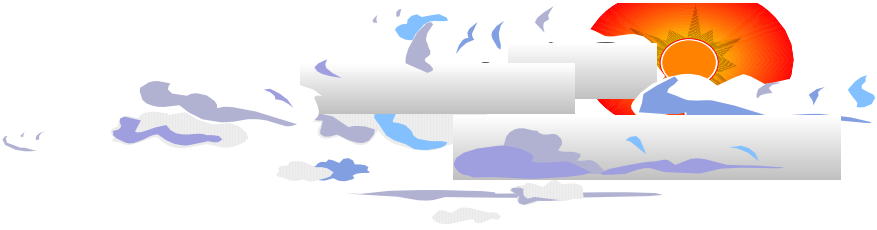
El sustrato cachaza + litonita logró disminuir el tiempo de estancia de las vitroplantas en la fase de adaptación (Tabla 14), las cuales alcanzaron un desarrollo y vigor satisfactorios a los 30, 36 ó 40 días, según la época evaluada (julio, septiembre y noviembre respectivamente), lo que posibilita aumentar de 8 ciclos/año a 12 ciclos/año con la misma capacidad instalada, o lo que es lo mismo, aumentar en un 50 % la capacidad instalada.

Tabla 14. Tiempo de permanencia para obtener el vigor necesario para el traslado de las vitroplantas (31)

| Estudio | Biofábrica | Fecha | Tratamiento | Permanencia (días) |
|---------|---------------|----------|--------------------|--------------------|
| 1 | Villa Clara | 4/7/96 | Litonita + Cachaza | 30 |
| | | | Testigo (compost) | 45 |
| 2 | Villa Clara | 23/9/96 | Litonita + Cachaza | 34 |
| | | | Testigo (compost) | 51 |
| 3 | Pinar del Río | 28/11/96 | Litonita + Cachaza | 40 |
| | | | Testigo (turba) | 56 |

Resultados parecidos han sido informados en cuanto al efecto positivo de la zeolita en los sustratos en diferentes especies como papa, plátano y malanga (22).

III. Condiciones climáticas



Los factores climáticos son determinantes para el crecimiento de la caña de azúcar. Existen dos épocas bien marcadas: una de un amplio crecimiento de la planta con un gran período de crecimiento entre los meses de mayo-octubre y un período de bajo crecimiento entre los meses de noviembre-abril, donde se realiza la cosecha del cultivo. Estos factores climáticos también influyen en el comportamiento de las vitroplantas en la fase adaptativa, lo que se demuestra en el caso que se presenta.

1. Efecto de la época en el crecimiento y desarrollo de la vitroplanta en la adaptación

Al evaluar el crecimiento de las vitroplantas de caña de azúcar en la fase de adaptación, para conocer el efecto de la época en el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas, se agruparon los resultados obtenidos con el uso de dos tipos de sustratos, sobre una variedad en varios momentos del año, dos de los cuales estaban en una y otra época.

Tabla 15. Índice de crecimiento diario de la altura según época e índice de eficiencia entre los dos sustratos (cachaza+litonita/compost) (31)

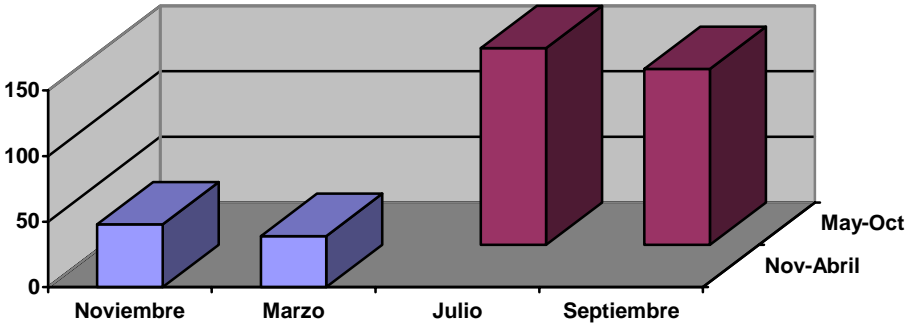
| Índice | Sustrato | Meses | | | |
|-------------------------|---------------------------------|-------|-------|------|------|
| | | Marzo | Julio | Oct. | Nov. |
| Crecimiento diario (mm) | Cachaza 40 % + Litonita 60 % | 1.20 | 3.27 | 2.90 | 1.51 |
| | Compost | 0.80 | 1.60 | 1.44 | 1.09 |
| | Eficiencia entre sustratos | 1.50 | 2.04 | 2.01 | 1.39 |

En la Tabla 15 se observa cómo varía el índice de crecimiento de la altura de las vitroplantas influenciado a la vez según el tipo de sustrato que se utilice, en el período de noviembre-abril, representado en este caso por evaluaciones efectuadas en noviembre y marzo, donde se observan los más bajos índices en correspondencia con que en este período se encuentran los meses de menor intensidad luminosa y las temperaturas más bajas. En los meses de julio y octubre se lograron los índices

Condiciones controladas

superiores, estando en correspondencia con el período de mayor intensidad luminosa y más altas temperaturas.

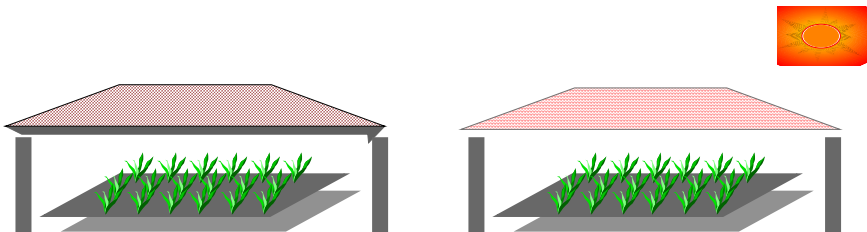
Figura 7. Efecto de la época en el desarrollo de las vitroplantas de caña de azúcar (33)



En la Figura 7 se observa un efecto marcado de la época, de intensa luminosidad, altas precipitaciones y temperaturas (mayo-octubre), que produce índice de crecimiento del doble de magnitud que el que se logra en la otra época de sequía con bajas o temperaturas medias y menor intensidad de la luz (noviembre-abril). La época de mayo-octubre es doblemente más eficiente y al utilizar un sustrato con gran potencial productivo (cachaza+litonita), logra un amplio índice de eficacia (Tabla 15). Como se ve en la época de noviembre-abril, las vitroplantas crecen menos del 50 % con respecto a la otra época y, por tanto, debería valorarse si en el período entre noviembre y abril sería útil producir otras especies que más se adapten a estas condiciones.

IV. Condiciones controladas

En la fase adaptativa se necesita situar las vitroplantas trasplantadas a las cajuelas en condiciones semicontroladas; la magnitud del control según la época del año puede afectar en alta medida su desarrollo y un ejemplo de ello se presenta a continuación.



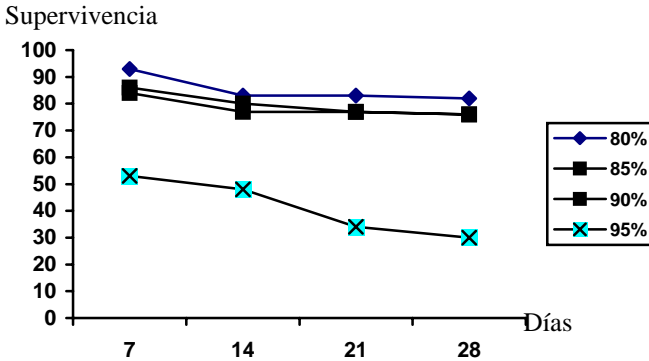
1. Protección o tapado

a) Efecto del manejo y control de la iluminación

En el área de adaptación del Centro de Bioplantas en Ciego de Avila, se evaluó el efecto de la interferencia de la luz en la adaptación de las vitroplantas. Se utilizaron cuatro tratamientos: 80, 85, 90 y 95 % de interferencia de la luz solar.

La interferencia de la luz solar provocó un efecto en la supervivencia de las vitroplantas, siendo más negativo el efecto a medida que la interferencia fue mayor, lo que demuestra la importancia de este manejo que sin duda deberá ser afectado según la época del año que sea.

Figura 7. Efecto de la interferencia de la luz en la adaptación (34)



En otro experimento realizado en el Instituto de Bioplantas de Ciego de Avila, se evaluó el manejo de las condiciones en el área de adaptación (35).

Tabla 16. Utilización de diversas protecciones en la fase

| Manejos | Masa fresca (g) | No. de hojas | No. de hijos |
|--|-----------------|--------------|--------------|
| Túnel 21 días + cantero 21 días | 5.99 | 4.50 | 0.25 |
| Túnel 21 días + exteriores 21 días | 7.42 | 6.06 | 0.43 |
| Cantero los 42 días | 6.54 | 5.26 | 0.28 |
| Cantero 21 días + exteriores 21 días | 8.18 | 5.81 | 0.76 |
| Túnel con 95 % de humedad relativa y 325 $\mu\text{mol/s.m}^2$ | | | |
| Cantero con 90 % de humedad relativa y 450 $\mu\text{mol/s.m}^2$ | | | |
| Exteriores con 80 % de humedad relativa y 4000 $\mu\text{mol/s.m}^2$ | | | |

Manejo sobre el material en la adaptación

La combinación cantero + exteriores sobresalió sobre el resto de las variantes, lo que posiblemente presupone que son necesarias condiciones semicontroladas en la etapa crítica de la adaptación y, posteriormente, las condiciones sin tapado posibilitan a esta planta tropical lograr los más altos coeficientes de producción de biomasa y debe, además, preparar mejor a las vitroplantas para su inmediata siembra en campo.

V. Manejo sobre el material en la adaptación

La manipulación y las prácticas de manejo sobre las vitroplantas en la fase adaptativa son muy variadas: entre ellas el corte de área foliar o poda y el deshije de la planta así como la aplicación sobre ellas de productos biológicos pueden explicar cambios a favor o en contra. Varias combinaciones de manejo pueden dar resultados parecidos, pero algunas prácticas pueden afectar en alta medida la eficiencia de esta importante etapa. Se presentan varios ejemplos para demostrar la anterior afirmación.

1. Efectividad del uso de biofertilizantes

Para el estudio de este factor se tomaron vitroplantas de las variedades C8751 y C1051-73, montándose los experimentos 1, 2 y 3. Al momento del trasplante se aplicaron diversos tipos de biofertilizantes sobre la base de hongos micorrizógenos (Ecomic) y bacterias rizosféricas (Azofert). Como sustrato se utilizó en el primer caso el compost al 100 % y en el segundo y tercer caso se utilizó la mezcla cachaza más litonita por ser un sustrato de mayor eficiencia para la adaptación de vitroplantas de caña de azúcar (31, 32). En el experimento 1 se montaron todos los tratamientos micorrizógenos en presencia o sin ella de quitina (5 g/kg de inóculo). Los tratamientos evaluados aparecen descritos en la Tabla 17; en el tercer experimento los diversos tratamientos fueron trasladados a los 30 días al INCA y trasplantados a recipientes de 0,185 m³ con tierra esterilizada, situando en cada uno cuatro vitroplantas y utilizando por cada tratamiento cinco recipientes, siendo evaluados a los siete meses en cuanto al número de hijos, altura y diámetro del tallo principal.

Tabla 17. Tratamientos de biofertilizantes utilizados

Experimento 1. Evaluación de biofertilizantes con sustratos orgánicos

Parte 1a. Biofertilizantes micorrizógenos sin quitina

| Sustrato | Variiedad | Fecha | Trata- miento | Biofertilizante | Dosis (g/vitroplanta) |
|----------|-----------|--------|------------------|------------------------|--------------------------|
| Compost | C1051-73 | 4/7/96 | 1 | <i>G. manihotis</i> | 2 |
| | | | 2 | | 4 |
| | | | 3 | <i>G. Fasciculatum</i> | 2 |
| | | | 4 | | 4 |
| | | | 5 | <i>G. Mosseae</i> | 2 |
| | | | 6 | | 4 |
| | | | 7 | Testigo sin aplicación | |

Manejo sobre el material en la adaptación

Parte 1b. Biofertilizantes micorrizógenos con quitina

| Sustrato | Variedad | Fecha | Tratamiento | Biofertilizante | Dosis (g/vitroplanta) |
|----------|----------|--------|-------------|------------------------|--------------------------|
| Compost | C1051-73 | 4/7/96 | 1 | <i>G. manihotis</i> | 2 |
| | | | 2 | | 4 |
| | | | 3 | <i>G. fasciculatum</i> | 2 |
| | | | 4 | | 4 |
| | | | 5 | Testigo | |

Parte 1c. Biofertilizantes bacterianos

| Sustrato | Variedad | Fecha | Tratamiento | Biofertilizante | Dosis (g/vitroplanta) |
|----------|----------|--------|-------------|----------------------|--------------------------|
| Compost | C1051-73 | 4/7/96 | 1 | <i>A. brasilense</i> | 2 |
| | | | 2 | <i>P. cepacia</i> | 2 |
| | | | 3 | Testigo | |

Nota: Los biofertilizantes se aplicaron mezclados con el sustrato

Experimento 2. Biofertilizantes micorrizógenos con nuevo sustrato

| Sustrato | Variedad | Fecha | Tratamiento | Biofertilizante | Dosis (g/vitroplanta) |
|--------------------------|----------|---------|-------------|------------------------|--------------------------|
| Cachaza + Litonita | C87-51 | 29/8/96 | 1 | <i>G. manihotis</i> | 2 |
| | | | 2 | | 4 |
| | | | 3 | <i>G. fasciculatum</i> | 2 |
| | | | 4 | | 4 |
| | | | 5 | Testigo | |

Nota: Los biofertilizantes se aplicaron mezclados con el sustrato

Experimento 3. Biofertilizantes bacterianos y micorrizógenos

| Sustrato | Variedad | Fecha | Tratamiento | Biofertilizante | Dosis (g/vitroplanta) |
|--------------------------|----------|---------|-------------|---------------------|--------------------------|
| Cachaza + Litonita | C87-51 | 26/2/96 | 1 | <i>G. manihotis</i> | 2 |
| | | | 2 | <i>G. manihotis</i> | -- |
| | | | 3 | <i>P. cepacia</i> | -- |
| | | | 4 | Testigo | |

Nota: Este experimento pasó a la fase de campo. El tratamiento 1 se aplicó mezclado con el sustrato; el resto de los tratamientos se aplicaron en forma de pasta a la raíz de la vitroplanta al momento de su siembra en la cajuela (33)

Al evaluar la respuesta a diversas cepas de hongos micorrizógenos y de bacterias rizosféricas utilizadas como biofertilizantes en el experimento 1 (Tabla 18), pudo observarse en sentido general que los biofertilizantes basándose en *Glomus manihotis*, *Glomus mosseae* y *Pseudomonas cepacia* intensificaron el desarrollo de las plántulas,

Manejo sobre el material en la adaptación

mientras que las dosis de 2 y 4 g/vitroplanta no presentaron en ningún momento diferencias marcadas. Se ha informado en vitroplantas de banano, que la dosis de 2 g/vitroplanta dio los mejores resultados, logrando un aumento del 69.4 % de la masa seca total (36).

En la parte 1a del experimento 1, donde los biofertilizantes micorrizógenos se utilizaron sin la aplicación de quitina, *Glomus mosseae* superó al control en más del 18 %; aquí las vitroplantas con la aplicación de *Glomus manihotis* y *Glomus fasciculatum* no se diferenciaron del control. En la parte 1b del experimento 1, en la que los biofertilizantes micorrizógenos se aplicaron con una pequeña dosis de quitina (5 g/kg de inóculo), el tratamiento de *Glomus manihotis* superó al control en más del 22 % de la altura. Las diferencias presentadas en las vitroplantas con *Glomus manihotis* en presencia o ausencia de quitina podrían deberse a la interacción de la quitina y la infección micorrízica. Se encontró un efecto positivo de la quitina y sus derivados (37) sobre la infección MVA, logrando efecto positivo sobre plántulas de tomate. Se han informado los hidrolizados de quitosana como estimuladores del crecimiento de vitroplantas de naranjo agrio (38), resultados que pueden justificar los encontrados en este trabajo.

Por otro lado, en los tratamientos que incluían diferentes cepas de bacterias (parte 1c), la *Pseudomona cepacia* presenta los resultados más satisfactorios con un 23 % por encima del control.

En el experimento 2 se evaluó nuevamente el efecto de las cepas micorrizógenas, resaltando en este caso el efecto del *G. mosseae* en el desarrollo de las plántulas. En este experimento se utilizó como sustrato la mezcla de cachaza + litonita, que es un sustrato eficiente para la adaptación de las vitroplantas (31, 32), lo que quedó demostrado porque aunque el primer experimento se inicia el 4 de julio, época donde existen mejores condiciones para el crecimiento y el segundo experimento se inicia el 29 de agosto, el crecimiento medio de las plántulas en los diversos tratamientos fue superior en el segundo experimento con respecto al primero, debido a las bondades del nuevo sustrato utilizado.

Nuevamente, las dosis de 2 y 4 g/vitroplanta de los biofertilizantes dio resultados semejantes y demuestra que en estas condiciones, la dosis de 2 g/vitroplanta de las micorrizas es suficiente para lograr un efecto positivo. Asimismo, se reitera el efecto positivo que ejercen *Glomus mosseae* y *Glomus manihotis* en la altura de las vitroplantas, de manera que con la utilización de la primera se alcanzó una altura superior al testigo, mientras que la segunda si bien no fue significativamente diferente, mantiene una tendencia a superar al control. *Glomus mosseae* logra superar al testigo en más del 21 % en su desarrollo y resalta que tanto en presencia de un sustrato con 100 % compost como en el sustrato sobre la base de cachaza + litonita, la inoculación con *Glomus mosseae* produjo un efecto significativo y positivo sobre el crecimiento de las vitroplantas.

Manejo sobre el material en la adaptación

Tabla 18. Efecto sobre la altura de las vitroplantas por la aplicación de los biofertilizantes (33)

| Experimento | Tratamiento | g/vitroplanta | Altura (mm) |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|-------------|
| 1a | <i>G. mosseae</i> | 2 | 71 |
| | | 4 | 72 |
| | <i>G. manihotis</i> | 2 | 62 |
| | | 4 | 64 |
| | <i>G. fasciculatum</i> | 2 | 59 |
| | | 4 | 61 |
| 1b | Control (Compost 100 %) | | 60 |
| | <i>G. manihotis</i> | 2 | 76 |
| | | 4 | 75 |
| | <i>G. fasciculatum</i> | 2 | 67 |
| | | 4 | 69 |
| | Control (Compost 100 %) | | 70 |
| 1 c | <i>A. brasilense</i> | 2 | 54 |
| | | 2 | 64 |
| | Control (Compost 100 %) | | 52 |
| | | | |
| 2 | <i>G. mosseae</i> | 2 | 115 |
| | | 4 | 118 |
| | <i>G. manihotis</i> | 2 | 110 |
| | | 4 | 108 |
| | Control (cachaza+litonita) | | 95 |
| | 3 | <i>G. manihotis</i> | 2 |
| Recub. la raíz (pasta) | | | 83 |
| <i>P. cepacia</i> | | | |
| <i>G. manihotis</i> | | | 61 |
| Control (cachaza+litonita) | | 54 | |

En el Experimento 3 se observó un efecto de *Glomus manihotis* al aplicarlo mezclado con el sustrato o en forma de pasta recubriendo las raíces. Se denota la alta efectividad que vuelve a mantener la *Pseudomonas cepacia*, que en este caso se aplicó en forma de pasta recubriendo el sistema radical de las vitroplantas al momento del trasplante a la cajuela. Se demostró (39) que la peletización de la *P. cepacia* fue una vía efectiva de inoculación en semillas de maíz. Se encontraron resultados positivos (40) al aplicar la *Pseudomonas* al arroz y se informó que el mayor efecto de la inoculación (41) se debe a la estimulación del crecimiento radical, que después se evidencia en un incremento general de la planta.

Manejo sobre el material en la adaptación

Las amplias diferencias presentadas en las vitroplantas donde se aplicó *Pseudomona cepacia*, las cuales sobrepasaron en más de un 53 % al desarrollo de las no tratadas justificó continuar con este experimento en la fase de campo (Tabla 19). Aún a los siete meses de realizada la aplicación, se mantuvo el efecto de la *Pseudomona cepacia* sobre todo en el número de hijos, factor muy positivo en esta fase de banco de semilla para aumentar el índice multiplicativo de esta, lo que demuestra lo positivo de la aplicación del biofertilizante sobre la base de *Pseudomona cepacia* a las vitroplantas a su arribo a la fase de adaptación.

Tabla 19. Efecto de la aplicación del biofertilizante a los siete meses del trasplante al suelo (33)

| Variante | No. de hijos | Altura (mm) | Diámetro (mm) |
|-------------------|--------------|-------------|---------------|
| Testigo | 2.92 | 94.2 | 1.92 |
| <i>P. cepacia</i> | 4.25 | 102.9 | 1.96 |
| % de aumento | 46.0 | 9.0 | 2.0 |

Algunos autores han informado que la supervivencia de las vitroplantas estuvo influenciada positivamente por los biofertilizantes (22), destacándose el tratamiento con micorriza. Se evidenció la superioridad de los tratamientos con MVA y fertilización. La segunda presentó los mejores resultados en algunos componentes, pero la MVA no presentó diferencia con esta y además tuvo mejor supervivencia.

Las MCA intensifican el crecimiento de las vitroplantas de plátano en la fase de adaptación (36), siendo la de mejores resultados *Glomus mosseae*; en el caso de la altura sobrepasó en un 39 % al testigo, en el área foliar un 59 % y en el número de hijos en un 5 %.

2. Efectividad de reguladores de crecimiento

La aplicación de reguladores de crecimiento afecta el resultado de las vitroplantas, lo que se demuestra en los siguientes ejemplos donde se evalúan algunos de producción nacional (brasinoesteroides sintetizados por la Facultad de Química de la Universidad de La Habana).

a) Imbibición de vitroplantas previo al trasplante a las cajuelas

Se estudiaron los bioestimuladores por inmersión de las raíces, durante 10 minutos, solos o combinados con el testigo constituido por el ácido naftalenacético (10 mg/L).

Los tratamientos con los brasinoesteroides siempre fueron superiores a donde solo se usó el ANA; los tratamientos 1 y 3 donde se utilizó el BB-6 sin presencia del ANA fueron superiores al testigo 9. Los mejores tratamientos fueron donde se utilizó el BB-6 a diferentes dosis en presencia o no del ANA, siendo entre ellos el 2, 3 y 4 los mejores.

Manejo sobre el material en la adaptación

Tabla 20. Diferentes dosis de las sustancias bioestimuladoras aplicadas por inmersión de las raíces de las vitroplantas (22)

| Tratamientos | Bioestimuladores (mg/L) | | | | Reguladores del crecimiento ANA mg/L 10 |
|--------------|-------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---|
| | Biobras-6 0.01 | Biobras-6 0.05 | Biobras-16 0.01 | Biobras-16 0.05 | |
| 1 | X | | | | |
| 2 | X | | | | X |
| 3 | | X | | | |
| 4 | | X | | | X |
| 5 | | | X | | |
| 6 | | | X | | X |
| 7 | | | | X | |
| 8 | | | | X | X |
| 9 | | | | | X |

Tabla 21. Resultados del crecimiento y desarrollo de las vitroplantas de caña de azúcar (22)

| Tratamientos | Sobrevivencia (%) | Variables analizadas | | | |
|--------------|-------------------|-------------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| | | Longitud del tallo (mm) | Número de hijos | Número de raíces | Largo de las raíces (mm) |
| 1 | 92.4 | 12.99 | 1.50 | 5.74 | 6.09 |
| 2 | 94.8 | 13.49 | 1.52 | 6.06 | 6.47 |
| 3 | 94.6 | 13.80 | 1.57 | 5.82 | 6.72 |
| 4 | 96.3 | 14.20 | 1.54 | 5.71 | 6.92 |
| 5 | 91.9 | 12.67 | 1.30 | 5.40 | 6.49 |
| 6 | 93.0 | 13.05 | 1.32 | 5.61 | 6.76 |
| 7 | 93.4 | 12.89 | 1.29 | 6.07 | 7.12 |
| 8 | 93.5 | 13.66 | 1.32 | 6.32 | 7.29 |
| 9 | 91.4 | 12.15 | 1.23 | 5.78 | 7.04 |

Manejo sobre el material en la adaptación

b) Aplicación foliar del regulador

Se aplicó bajo tres dosis 0.1, 0.05 y 0.005 mg/L el BB-16 en aplicaciones foliares con un humectante (T-80) a las 9:00 de la mañana a los 6, 12, 18, 6 y 12, y 12 y 18 días de trasplantadas las vitroplantas, aprovechando la aplicación foliar de nitrógeno que se realiza semanalmente. En cada aplicación se consumieron como promedio 40 mL de la solución por cajueta de 120 alvéolos; se utilizaron controles donde se aplicó agua foliar con un gasto aproximado a los otros tratamientos. A los 40 días de estancia en la fase de adaptación, se midió la altura de las vitroplantas y se evaluaron 100 vitroplantas/tratamiento.

La dosis 0.05 mg/L presentó comparativamente la mejor respuesta con respecto a las otras dosis y la aplicación acumulada a los 6 y 12 días en las diferentes dosis presentó la mejor tendencia. La dosis 0.05 mg/L de BB-16 en esos dos momentos (6 y 12 días) superó en más de un 24 % el control no aplicado. En el Instituto de Biotecnología de las Plantas de Cuba, se informa que la aplicación foliar del BB-6 logró duplicar la altura a las vitroplantas de caña de azúcar (42).

Tabla 22. Respuesta a la aplicación del BB-16. Altura de la planta (mm) a los 40 días de su estancia en la fase de adaptación (30)

| Dosis mg/L | Momentos de aplicación (días) | | | | | Valor medio |
|---------------|--|----|------|-------|-------|-------------|
| | 6 | 12 | 18 | 6-12 | 12-18 | |
| | Altura media de las vitroplantas a los 40 días de ser trasplantadas (mm) | | | | | |
| 0.01 | 81 | 83 | 78 | 85 | 84 | 82.2 |
| 0.05 | 84 | 86 | 85 | 99 | 89 | 88.6 |
| 0.005 | 79 | 81 | 80 | 85 | 81 | 81.2 |
| Control | 79 | 82 | 79 | 80 | 82 | 81.2 |
| Valor medio | 80.75 | 83 | 80.5 | 87.25 | 84 | 83.3 |

Algunos autores (43) encontraron que al tratar un grupo significativo de vitroplantas de plátano con BB-6 ó BB-16 y Pectimorf (producto sintetizado por el Laboratorio de Oligosacarinas del INCA, cuyo principio es una mezcla de oligosacarinas de origen péptico), así como la mezcla BB-6 (0.05 mg/L) + Pectimorf (0.5 mg/L), encontraron una intensa respuesta del brasinoesteroide y de la mezcla de este con el Pectimorf, que logró duplicar ampliamente el área foliar de las plántulas no aplicadas.

3. Efecto de controladores biológicos

En correspondencia con la tendencia de sostenibilidad muy compatible con el uso de una biotecnología agrícola imbricada en esta problemática tan vital para el medio, se ponen algunos ejemplos de usos de bioplaguicidas utilizados.

Manejo sobre el material en la adaptación

Tabla 23. Tratamientos aplicados

| Tratamientos | Tipo de control y dosis |
|--------------|--|
| 1 | <i>Bacillus turingiensis</i> (4 L/ha) + <i>Beauveria bassiana</i> (0.46 kg/10 L) |
| 2 | <i>Bacillus turingiensis</i> (4 L/ha) + <i>Verticillium lecanii</i> (0.46 kg/10 L) |
| 3 | <i>Trichoderma</i> sp (2 g/m ²) |
| 4 | <i>Trichoderma</i> sp (2 g/m ²)+ <i>B.Turingiensis</i> (4 L/ha) + <i>B. bassiana</i> (0.46 g/10 L) |
| 5 | Control con productos químicos |

Algunos de los microorganismos utilizados fueron eficientes en el control de las plagas y las enfermedades; los mejores resultados se encontraron con la *Trichoderma* sp. a 2 g/m² y el tratamiento combinado: *Bacillus turingiensis* 4 L/ha + *Beauveria bassiana* 0.46 kg/10 L y *Trichoderma* sp a 2 g/m².

Al iniciar el experimento, las plantas donde se aplicó el tratamiento con *Trichoderma* sp tenía grado 1 de ataques de plaga y al final de la fase solo presentaba un 0.64, que se considera muy bajo, es decir, este tratamiento logró retener el aumento de la plaga y no permitió la aparición de enfermedades; el tratamiento combinado con los tres bioplaguicidas no permitió la aparición de ninguna enfermedad y/o plaga. Estos productos tuvieron los mismos resultados que los plaguicidas químicos que dejan residuales muy dañinos para el medio.

Tabla 24. Efectividad del biocontrol de plagas y enfermedades por microorganismos respecto al quimicontrol (22)

| Tratamientos | Caña de azúcar | | | | |
|--------------|---|---------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| | Grado de afectación por plagas al iniciar | Altura al final de la fase (cm) | Coloración de las plantas al final de la fase | Grado de afectación de enfermedades | Grado de afectación de plagas |
| 1 | 0 | 12.48 | Verde | 0.18 | 0 |
| 2 | 0 | 12.56 | Verde | 0.15 | 0 |
| 3 | 1 | 12.38 | Verde | 0 | 0.64 |
| 4 | 0 | 12.51 | Verde | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 12.43 | Verde | 0 | 0.08 |

4. Aplicación del deshije en el material

Aprovechando las características del cultivo, el autor evaluó la importancia del deshije y el uso de los hijos desprendidos. A los 20 días de la siembra de las cajuelas se procedió al desprendimiento de los hijos y a su siembra por separado en cajuelas diferentes, evaluando el tiempo y vigor de las nuevas plántulas.

Tabla 25. Evaluación del deshije en vitroplantas

| Tratamientos | Altura media de las vitroplantas (mm) | | | |
|-------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | 20 días | 30 días | 40 días | 50 días |
| Vitroplantas sin deshijar | 75 | 112 | 145 | 156 |
| Vitroplantas deshijadas | 75 | 113 | 153 | 168 |
| Hijos (días trasplantados) | - | 58 (10 días) | 86 (20 días) | 144 (30 días) |

Como se observa, las vitroplantas deshijadas a los 10 días mantuvieron la no diferencia de crecimiento con las no deshijadas, pero ya a los 20 y 30 días después del deshije, lograron sobrepasar en alta medida el desarrollo de las no deshijadas. Los hijos desprendidos y sembrados en cajuelas lograron mejor desarrollo que las vitroplantas en el mismo período de tiempo, lo cual es lógico por tener estos un desarrollo más vigoroso que las vitroplantas madres.

VI. Integración de una tecnología

Valorando los diferentes resultados discutidos, se han resumido los cambios tecnológicos que se desprenden de estas investigaciones:

- Utilizar embriones somáticos como base para el proceso de micropropagación, lográndose abaratar en alta medida el costo final de las vitroplantas.
- Usar en la fase de enraizamiento el medio de doble capa, es decir, en el medio sólido de la fase de multiplicación, aplicar en el mismo frasco y sobre el anterior medio el medio líquido de enraizamiento, enriquecido con los análogos de brasinoesteroides sintetizados en Cuba (BB-6 ó BB-16) a dosis de 0.01 mg/L en complementación del AIA a dosis de 1.3 mg/L. Esto posibilita acortar un 50 % del tiempo en esa fase y permite un ahorro marcado de frascos, fuerza de trabajo y electricidad.
- Al extraer las vitroplantas de las cámaras climatizadas, estas deben ser fraccionadas a vitroplantas individuales para lograr duplicar su número.
- Posterior a su fraccionamiento, estas deben calibrarse en tres categorías según su altura en: grandes, medianas y pequeñas, para ser plantadas según su calibre en cajuelas distintas. Esto posibilita aproximadamente que el 20 % de las arribantes a la fase de adaptación sean extraídas de dicha fase en un 20 % menos de tiempo, lo

Integración de una tecnología

que permite obtener entregas adelantadas y aumentar la capacidad de las facilidades creadas en esta fase.

- Utilizar como sustrato cachaza 40 % + litonita 60 %, que disminuye la mortalidad a valores ínfimos, logra disminuir el tiempo de estancia de las vitroplantas en la fase de adaptación, lo que posibilita aumentar de 8 a 12 ciclos/año con la misma capacidad instalada, o lo que es lo mismo, aumentar en casi el 50 % la capacidad instalada.
- Programar el trabajo *in vitro*, de forma tal que todos los materiales a aclimatarse de vitroplantas de caña de azúcar salgan en el período de mayo a octubre, donde se duplica la producción con respecto al período noviembre a abril. Esto juega con explotar el gran período de crecimiento del cultivo, no solo en la fase adaptativa sino en los bancos de semilla. En el período de noviembre a abril se podrían producir otras especies, como la papa, que sí logra en este período un buen desarrollo.
- Utilizar la protección o el tapado durante los primeros 21 días de la adaptación de las vitroplantas y posteriormente sacarlas al exterior sin tapado, manteniendo sus exigencias hídricas. Con ello se logra aumentar en más del 20 % la taza diaria de crecimiento y, por tanto, acortar la estancia de las vitroplantas en la fase de aclimatación, que trae como consecuencia liberar tempranamente un 20 % del área tapada; además, las vitroplantas salen más preparadas para su trasplante al campo.
- Utilizar como biofertilizante *Glomus mosseae* a una dosis de 2 g/vitroplanta, aplicado al momento del trasplante o mezclado con el sustrato o la *Pseudomona cepacia* aplicada en forma de pasta, para recubrir la raíz de la vitroplanta al momento del trasplante; posibilita un amplio desarrollo de las vitroplantas y ayuda a aumentar el índice multiplicativo al incrementar el ahijamiento de la planta posterior a su traslado al campo.
- Utilizar los reguladores de crecimiento BB-6 ó BB-16: el primero previo al trasplante, imbibiendo las vitroplantas durante 10 minutos a una concentración de 0.05 mg/L y el segundo aprovechando las aplicaciones foliares que se ejecutan semanalmente; aplicar a los 6 y 12 días del trasplante el BB-16 a una dosis de 0.05 mg/L. Con estas aplicaciones se logra un mayor crecimiento de las vitroplantas.
- Aplicar el deshije a las vitroplantas y trasplantar los hijos a cajuelas. Esto debe ejecutarse a los 20 días de su llegada a la fase, lo que significa duplicar el número de plantas adaptadas.
- Aplicar de manera preventiva cada siete días el biopreparado sobre la base de *Bacillus turingiensis* 4 L/ha + *Beauveria bassiana* 0.46 kg/10 L y *Trichoderma sp* a 2 g/m²; con ello se logra obtener plántulas libres de patógenos y con un buen vigor.

REFERENCIAS

1. Hartmann, H. T. y Kester, D. E. Plant principles of tissue culture for micropropagation, cap. 16, pp. 524-565, Engleword (New Jersey), 1983.
2. Agramonte, D., Jiménez, F. y Dita, M. A. Aclimatación En: Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Ciego de Ávila : Instituto Biotecnología de las Plantas, 1998.
3. Preece, J. E. y Sutter, E. G. Aclimatization of micropropagated plants to the Greenhouse and the field. En: Micropropagation. The Netherlands : Kluwer Academic Publishers, 1991, p. 71-93.
4. Van Huylbroek, J. M. Influence of the light during the acclimatization of *in vitro* plantlets. En: Plant production on the threshold of the new century. 1994, p. 451-453.
5. Van Huylbroek, J. M., Huygens, H. y Debergh, P. C. Photoinhibition during acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum petite* plantlets *in vitro*. *Cell. Dev. Biol Plant*, 1995, vol. 31, p. 160-164.
6. Van Huylbroek J. M. y Debergh, P. C. Physiological aspect in acclimatization of micropropagated plantlets. *Plant Tissue Cult. Biotech.*, 1996, vol. 12, p. 136-141.
7. Murashige, T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.*, 1962, vol. 15, p. 437-497.
8. Druart, Ph. *et al.* *In vitro* promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. *Pflanzenphysiol.*, 1982, vol. 108, p. 429-436.
9. Debergh, P. y Maene, L. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Hort.*, 1981, vol. 14, p. 335-345.
10. Boxus, P. H. *In Vitro* vegetative propagation of plants nestlé research news, 1986, p. 77-78.
11. Ziv, M. *In vitro* acclimatization. En: Automatization and environmental control in plant tissue culture, Netherlands. Klumer Publisher, 1995, p. 493-513.
12. Robert, M. Programa para reproducción de los agaves en Yucatán. Mérida:CICY, 1998.
13. Lovato, P. J., Guillermin, P. y Trouvelot, A. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. *Agronomie*, 1992, vol. 12, p. 873-880.
14. Guillermin, J. P., Gianinazzi, S. y Trouvelot, A. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. *Agronomie*, 1992, vol. 12, p. 831-836.
15. Noval, Blanca de la *et al.* Micorrización de plantas micropropagadas de *Encyclia* sp. (*Orchidaceae*). En: Taller sobre Biofertilización en los Trópicos, Seminario Científico del INCA (3, 10: 1996 nov. 6-8: La Habana).

Referencias

16. Noval, Blanca de la, Fernández, F. y Herrera, R. Efecto del uso de micorriza arbuscular y combinaciones de sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña. *Cultivos Tropicales*, 1995, vol. 16, no. 1, p. 19-22.
17. Azcón-Aguilar, P. *et al.* Further studies on the influence of micorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie*, 1992, vol. 12, p. 837-840.
18. Willians, S. C. K. *et al.* Effect of fertilizer and arbuscular mycorrhizal fungi on the post *in vitro* growth of micropropagated strawberry. *Agronomie*, 1992, vol. 12, p. 851-857.
19. Valdés Ainel, R. *et al.* Influencia de varias cepas de hongos MVA sobre el crecimiento de vitroplantas de plátano a escala de laboratorio y producción. En: Taller sobre Biofertilización en los Trópicos, Seminario Científico del INCA (1,8:1992 nov. 18-20:La Habana).
20. Páez, Agueda, *et al.* Determinación de la eficiencia de diferentes cepas de micorrizas arbusculares en la adaptación de vitroplantas de *Psidium salutare*. En: Taller sobre Biofertilización en los Trópicos, Seminario Científico INCA (3, 10:1996 nov. 6-8:La Habana).
21. Nemeth, G. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 1. Capítulo IV. Induction of Rooting Springer-Verlag Berlin Hiedelberg., 1986.
22. Pérez-Ponce, J. N. *et al.* Desarrollo y perfeccionamiento de la propagación masiva en las fases III y IV, enraizamiento y adaptación en la caña de azúcar, papa, y plátanos, bananos y adaptación de semillas artificiales de caña de azúcar. Informe final del proyecto No. 300025. CITMA, 1997.
23. Terán, Z., Grass, G. y Plana, R. Sustratos más eficientes con zeolita para la adaptabilidad de vitroplántulas de caña de azúcar. *Cultivos Tropicales*, 1996, vol. 17, no. 3, p. 47-51.
24. Ortiz, R., de la Fé, C. y Jiménez, Mayra. Principales resultados del trabajo desarrollado en las Biofábricas de Caña de Azúcar de Villa Clara (EPICA) y Pinar del Río. En: Memorias del Taller sobre producción de vitroplantas de caña de azúcar (1:1997 ene 21-23:Villa Clara).
25. Fernández F. y Gómez, R. Avances en la tecnología de aplicación de las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) y su uso combinado con otros biofertilizantes. III Taller sobre Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA (3, 10: 1996 nov. 6-8: La Habana).
26. Fernández, F. Efectividad de los biofertilizantes micorrizogenos. Conferencias a técnicos y productores colombianos en diversos Dptos. de Colombia, Feb-Nov/1995.
27. Fernández, F. The effect of commercial arbuscular micorrhizal fungi (AMF) inoculants on rice (*Oryza sativa*) in different types of soils. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 1, p. 5-9.

Referencias

28. Gómez R., Herrera, O. y Freire, M. Estudio comparativo de la embriogénesis somática y la micropropagación como vías de multiplicación de la caña de azúcar. *Centro Azúcar*, 1994, vol. 4, p. 23-26.
29. MINAZ. Instructivo técnico sobre la micropropagación de la caña de azúcar en Cuba, 1994.
30. Fé, C. de la, Ortiz, R. y Jiménez, Mayra. Aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. II. Efecto de análogos de brasinoesteroides en la multiplicación, el enraizamiento y la adaptación de las vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 3, p. 45-48.
31. Ortiz, R., Fé, C. de la y Lara, D. Aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. I. Sustratos más eficientes para la adaptación de vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 2, p. 45-50.
32. Ortiz, R., Fé, C. de la y Lara, D. Aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. III. Uso de biofertilizantes y manejo de vitroplantas en la fase de adaptación. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 3, p. 49-54.
33. Ortiz, R., Fé, C. de la y Lara, D. Aportes a la tecnología de adaptación en el proceso de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. *Revista ATAC*, 1999, no. 1, p. 29-37.
34. Rodríguez, R. *et al.* Aclimatación de plántulas de caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) provenientes de sistemas de inmersión temporal. Laboratorio de propagación masiva de plantas. Centro de Bioplantas. UNICA, Ciego de Avila. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3, p. 51-52.
35. González, J. L.; Rodríguez, O. R.; Escalona, Maritza; Rodríguez, Yania; Cid, Marcela y Piña, D. Aclimatación de plántulas de caña de azúcar. Informe final "Propagación de semilla de alta calidad en caña de azúcar" Centro de Bioplantas. Diciembre, 1999.
36. Noval, Blanca de la, Hernández, María J. y Hernández, J. C. Utilización de las micorrizas arbusculares en la adaptación de vitroplantas de banano (*Musa* sp.). Dosis y cepas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y combinaciones de sustratos. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 3, p. 5-9.
37. Iglesias, R. *et al.* Efecto de un polisacarido natural y sus derivados sobre la infección micorrízica y el crecimiento de las plantas de tomate. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 70.
38. Marrero, María T. *et al.* Hidrolizado de quitosana como estimulador de crecimiento de vitroplantas de naranjo agrio. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 1, p. 38-39.
39. Hernández, Ana N., Hernández, Annia y Martínez, M. A. Estudio de vías de inoculación con *P. cepacia* en maíz. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 70-71.

Referencias

40. Martínez, M. A., Hernández, Ana N. y Hernández, Annia. Estudio de la *Pseudomona cepacia* como biofertilizante en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 75-76.
41. Fernández, Ana I. *Azospirillum lipoferum* y *Azospirillum brasilense*. Sus relaciones con el maíz y caña de azúcar. Tesis de Grado de Maestro en Ciencias, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1995, 71 p.
42. Nieves, Nadina, *et al.* Semilla artificial: una vía biotecnológica para la propagación de caña de azúcar. Informe final "Propagación de semilla de alta calidad en caña de azúcar" Centro de Bioplantas. Diciembre, 1999.
43. Núñez, Miriam, Benítez, Barbara y Toledo, E. Efecto de sustancias bioactivas en el crecimiento de vitroplantas de plátano (*Musa* sp.). Taller de Productos Bioactivos. Taller de Brasinoesteroides (2, 7: 1999 Oct. 28 : La Habana).

En este documento se abordan los factores que afectan el desarrollo de las vitroplantas de caña de azúcar en la fase adaptativa; dicha fase resulta la más importante del proceso productivo de la micropagación; sin embargo, no se le ha prestado la debida atención, siendo objeto de esta recopilación llamar la atención de los numerosos y diversos factores que pueden influir. Se presentan ejemplos prácticos de resultados cubanos en caña de azúcar, pero pueden ajustarse a otras especies vegetales que se deseen propagar. Los ejemplos que se presentan cuantifican el efecto de los factores en el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas en la fase adaptativa. Se evalúan factores previos a la entrada de las vitroplantas en la fase, entre los cuales están: origen del material de partida, componentes y estado de los medios de cultivo y manejo final del material *in vitro*. Ya en la fase, se hace una profunda evaluación de los sustratos, el efecto de las condiciones climáticas en el desarrollo de las vitroplantas y el manejo y su efecto por medio de protectores o tapado y se discute un grupo de resultados relacionados con el manejo del material en esta fase. Sin pretender integrar una tecnología, se conforma una estrategia posible de cambios con los resultados evaluados que podrían modificar la metodología establecida.

ISBN 959-7023-12-1



9 789597 023128