

COMPORTAMIENTO DE 15 VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR DURANTE EL PROCESO DE CALLOGÉNESIS "IN VITRO"

L. LAGO¹ Y A.M. BARRETO²

RESUMEN

La callogénesis y la diferenciación de distintos genotipos en el cultivo de tejidos puede variar. Con el objetivo de conocer el comportamiento de diferentes variedades de caña de azúcar en los trabajos de cultivo de tejidos, se evaluaron 15 variedades. A partir del verticilo apical de tallos de plantas adultas se inició el cultivo de las mis-

mas, con transferencia hacia medios de cultivo frescos cada 25-30 días. Al cabo de 7 meses se evaluó la callogénesis, el color de los callos, textura y la diferenciación en las distintas variedades ensayadas. Se analizan los resultados obtenidos, los cuales pueden dar información complementaria para el trabajo de cultivo de tejidos en variedades de caña de azúcar.

INTRODUCCION

Diversos autores han constatado en caña de azúcar una variación de la callogénesis en el cultivo de tejidos, ligada al genotipo de la planta donante reflejada en diferencias entre espacios y variedades (Heinz y Mee, 1969; Barba y Nickell, 1969 y Chagvardieff, 1980).

Es de pensar, por tanto, que en un mismo medio de cultivo, distintos genotipos pueden presentar un nivel de callogénesis variable.

Las variaciones pueden ser atribuidas a la diferente sensibilidad del material

sembrado en 2,4-D. Por ello, es frecuente observar que se necesita la existencia de un medio de cultivo más universal que resuelva las exigencias del trabajo en el cultivo de tejidos.

La ausencia de trabajos en este sentido en nuestro país y la necesidad de conocer el comportamiento de los materiales existentes en el cultivo de tejidos ha sido el principal objetivo de este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 15 variedades de caña de azúcar:

- | | |
|--------------|------------------|
| 1- C. 611-50 | 9- B. 34-39 |
| 2- B. 51-129 | 10- C. 11-52 |
| 3- C. 51-51 | 11- C. 45-52 |
| 4- J. 60-3 | 12- PR. 905 |
| 5- CP. 38-34 | 13- C. 92-52 |
| 6- Ty. 76-17 | 14- My. 54-64 |
| 7- Ja. 62-6 | 15- Cuba 1051-73 |
| 8- B. 36-93 | |

Para el establecimiento del cultivo de callos "in vitro" de cada variedad,

se partió de brotes apicales enrollados provenientes de plantas jóvenes y sembradas en el campo.

Los verticilos apicales utilizados para las siembras de tejidos en cultivo "in vitro" fueron esterilizados para los métodos normales utilizados en esos casos.

Estos verticilos se cortaron en el campo en secciones de 30 cm de largo y luego, se tomaron 10-15 cm de la parte más cercana al punto meristemático para su ulterior manipulación en el laboratorio.

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISCAH, La Habana.

²Centro Nacional de Investigaciones Científicas, MES.

El medio basal utilizado fue el de Heinz (Heinz y Mee, 1969) modificado en el laboratorio (Korneva y Maribona, 1982), el cual contenía 3 mg/l de 2,4-D así como 100 mg/l de Myo-inositol y 100 ml de agua de coco.

La esterilización del medio de cultivo se realizó en un autoclave vertical a 121 °C y 1 atmósfera de presión.

Para cada variedad se utilizó una población de 100 secciones del verticilo apical de alrededor de 1 cm de altura.

Todo el proceso de callogénesis se realizó en un cuarto oscuro a temperatura de 20 ± 1 °C.

Durante la etapa de callogénesis se evaluaron:

- . el color de los callos
- . el valor de la callogénesis
- . la consistencia

De igual forma, se evaluó el inicio de la callogénesis para determinar posibles diferencias entre los materiales utilizados.

La notación utilizada fue de R₀ para el proceso de implantación de los verticilos apicales "in vitro", posteriormente cada transferencia de medio se denominó R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅.

La callogénesis se evaluó mediante una escala visual usada por Chagvar-dieff (1980):

Notación	Apreciación del fenómeno de callogénesis
0	ausencia de respuesta
1	muy poca intensidad
2	intensidad mediocre
3	nivel medio
4	callogénesis muy activa
5	respuesta máxima observada

Por otra parte, se observó la capacidad de regeneración de estos callos obtenidos "in vitro", los que se transfirieron a un medio desprovisto de 2,4-D y se colocaron en un cuarto de cultivo con un régimen de eliminación de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

RESULTADOS Y DISCUSION

Uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta para el uso de las técnicas de cultivo de tejidos es la universalidad del medio basal utilizado.

Para comprender el comportamiento de las 15 variedades en un mismo medio basal ha sido necesario evaluarlas en sus diversos momentos.

Callogénesis

En rangos generales el inicio de la callogénesis se produce a los 15 y 20 días de incubación en el medio.

El inicio de la callogénesis fue más rápido en variedades como B. 51-129 y C. 51-51 mientras que en otras la implantación y ulterior callogénesis demoró mayor tiempo.

Raj Bhansati (1982) ha señalado la existencia de diferencias en los patrones de crecimiento de tres cultivares, así como en la apariencia y el potencial morfo-genético de los callos.

En este sentido, hemos observado que los callos obtenidos en cada uno de los 15 cultivares tienen sus particularidades propias en cuanto a su crecimiento, apariencia y potencial morfo-genético.

Como puede verse en la Tabla I, los cultivares agrupados, de acuerdo a su callogénesis en el medio de cultivo utilizado, difieren entre sí aún cuando la mayoría alcanza los valores máximos.

Dentro de estos valores alcanzados en la callogénesis hay que destacar los de las variedades C. 11-52 y C. 45-52, que logran un comportamiento excelente.

En algunos casos, la presencia de puntos necróticos se observó en los callos de los cultivares Ja. 62-6, B. 34 y C. 1051-73.

En el caso de la variedad BP. 3439, los callos se necrosan como en la Ja. 60-5. En la variedad C. 1051-73 los puntos necróticos devenían en una necrosis completa de los callos al momento de la diferenciación, en tres ocasiones.

Los ajustes del medio en relación con el contenido de argenina (2,5; 25; 50; 75; 100 mg/l) tampoco dieron resultados, por lo que deberá seguirse trabajando en la determinación de los requerimientos de los callos en este cultivar.

Se observó muy poca diferenciación en el cultivar J. 60-3 como es normal observarlo.

Tabla I: Comportamiento de la callogénesis y el color de los callos 'in vitro' de los distintos genotipos en R₅.

valor de la callogénesis	Cultivar	Color de los callos
5	CP. 38-34	grisáceo-rojizo
	C. 11-52	amarillo-grisáceo
	C. 45-52	amarillo
	C. 92-52	grisáceo
	My. 54-64	grisáceo-rojizo
	C. 611-50	grisáceo
4	B. 51-129	amarillo
	C. 51-51	grisáceo-rojizo
	Ty. 76-17	grisáceo-rojizo
	B. 34-39	grisáceo-rojizo
3	J. 60-3	amarillo-rojizo
	PR. 905	blanco-amarillo
	C. 1051-73	grisáceo-rojizo
2	Ja. 62-6	amarillo
	B. 36-93	grisáceo-rojizo

Se encontraron plantas albinas en Ja. 60-3; PR. 905; C. 92-52 y B. 3439.

Interesante resulta la CP. 38-34, la cual presenta uniformidad en el color de los callos, mientras que en el momento de la diferenciación produce una gama de colores.

Aún cuando se utilizó un tamaño uniforme de los callos sembrados en cada transferencia, el crecimiento de los mismos no fue uniforme, excepto en la variedad C. 51-51.

Se observó uniformidad en el color de los callos en los cultivares CP. 38-34; Ja. 62-6; C. 11-52 y no uniformidad en B. 36-93; Ja. 60-3; C. 45-52 y C. 105-73.

El crecimiento más pobre de los callos se observó en Ja. 62-6 y B. 36-93.

Los resultados obtenidos coinciden con los ya expresados por Barba y Nickell (1969) así como por Chagvardieff (1980) cuando expresaban que la variación de la callogénesis en cultivo de tejidos está ligada al genotipo de la planta.

Organogénesis

El proceso de diferenciación de los callos fue propiciado al suprimirse al medio el 2,4-D.

No se reportaron casos de diferenciación en medios que contienen 2,4-D.

El enraizamiento se observó, de forma generalizada, en todos los cultivares al momento de ser llevados a la casa de cristal.

En la diferenciación de PR. 905 mostró el color más intenso en la tonalidad de las hojas con relación al resto de los cultivares estudiados.

En todos los casos, al momento de diferenciar los callos se obtuvieron 10 plántulas/frasco (2 plantas por callo).

Este valor habla de la inversalidad del medio de cultivo empleado, ya que la valoración de la diferenciación (núme

ro de brotes) habría que realizarse teniendo en cuenta la cantidad de callos producidos por cada cultivar, lo cual no fue objeto del trabajo.

En el futuro debe acometerse la tarea de elevar la eficiencia del medio de

cultivo para otros genotipos.

Existen indicios de que los resultados obtenidos en el trabajo "in vitro" pueden dar elementos para ser utilizados en la selección precoz de diversos materiales.

REFERENCIAS

- BARBA, R.; L.G. NICKELL. 1969. *Nutrition and Organ Differentiation in Tissue Cultures of Sugarcane, a Monocotyledon*. Plant 89: 299-302.
- BHANSALI, R. AND K. SINGH. 1982. *Callus and Shoot Formation from Leaf of Sugarcane in Tissue Cultures*. *Phytomorphology*, 32 (2, 3): 167-170.
- CHAGVARDIEFF, P. 1980. *Culture "in vitro" de tissu de canne a sucre (Saccharum sp.) Etude de facteurs de la callogenèse et de la régénération*. *These de Doctorat. Université Paris-Sud. Centre d'Orsay*. 75 p.
- HEINZ, D.J.; G.W.P. MEE AND L.G. NICKELL. 1969. *Chromosome Numbers of Some Saccharum Species Hybrids and their Cell Suspension Culture*. *Amer. J. Bot.* 56 (4): 450-456.
- HEINZ, D.J. AND W. MEE. 1969. *Plant differentiation from Callus Tissue of Saccharum Species*. *Crop Sci.* 9: 346-348.
- KORNEVA, S. AND R.H. MARIBONA. 1982. *Influences of Growth Factors on Sugarcane Callus Growth and Shoot Regeneration*. (En prensa).

ABSTRACT

PERFORMANCE OF FIFTEEN SUGARCANE VARIETIES WITHIN THE: 'IN VITRO' PROCESS OF CALLUS GENESIS

Callus genesis and genotype differentiation may vary in tissue culture. Fifteen sugarcane varieties were tested to know their performance. Spindles from

mature plants were cultivated and further transferred to fresh media, every 25 - 30 days. Callus genesis, color and texture as well as differentiation of varieties were evaluated after 7 months. Results were analyzed to complete the tissue culture information for sugarcane varieties.

Manuscrito recibido el 6/X/86.