APORTES A LA TECNOLOGÍA DE MICROPROPAGACIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR APLICADA EN CUBA. I. SUSTRATO MÁS EFICIENTE PARA LA ADAPTACIÓN DE VITROPLANTAS

R. Ortiz, C. de la Fé y D. Lara

ABSTRACT. This experiment was carried out at the sugarcane vitroplant-producing factories of Villa Clara and Pinar del Río in 1996, with the aim of showing its contribution to micropropagation technology as a result of performing several studies to evaluate the kind of substrate employed within the adaptation phase. Such contribution includes the use of a substrate made up by filter cake at 40 % and litonite at 60 %, where seedlings surpassed check height by more than 150 %; besides doubling the multiplication coefficient in this stage. Its quick growth reduces seedling stay at the adaptation area, which means a greater vitroplant factory productivity as a result of increasing vitroplant adaptation capacity by 50 % in a year.

Key words: biotechnology, micropropagation, vitroplant, adaptation, sugarcane

RESUMEN. El presente trabajo se desarrolló en las biofábricas de Villa Clara y Pinar del Río productoras de vitroplantas de caña de azúcar durante 1996; en él se exponen los aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar, surgidos como resultado de los diversos estudios encaminados a la evaluación del tipo de sustrato utilizado en la fase de adaptación. Los aportes a la tecnología de micropropagación incluyen la utilización del sustrato compuesto por cachaza al 40 % y litonita al 60 %, en el cual las plántulas superaron en más del 150 % la altura del testigo utilizado, además de duplicar el coeficiente de multiplicación en esta fase. Su acelerado crecimiento posibilita disminuir el tiempo de estancia de las plántulas en el área de adaptación, lo que equivale a aumentar la productividad de las biofábricas debido al incremento en un 50 % de la capacidad de adaptación de vitroplantas en un año.

Palabras clave: biotecnología, micropropagación, adaptación, vitroplantas, caña de azúcar

1043

INTRODUCCIÓN

El cambio de las plantas a diferentes condiciones ambientales trae como consecuencia que estas sean muy susceptibles a diferentes estrés, debido a que no han desarrollado o no han adaptado sus órganos a estas nuevas condiciones, por lo que necesitan responder 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 (Preece y Lutter, 1991).

Pocos son los trabajos que recoge la literatura internacional con respecto a esta temática. En materia de sustrato, Murashige y Skoog (1962) señalaron su importancia como el lecho en el que las plántulas obtenidas *in vitro* deberían 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.

Dr. R. Ortiz, Investigador Titular y C. de la Fé, Investigador Auxiliar del departamento de Genética y Mejoramiento; D. Lara, Investigador Agregado del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

Otros autores como Debergh y Maene (1985) señalaron que la adaptación de las plántulas provenientes de condiciones *in vitro* al medio natural debe ser cuidadosa, pues la fisiología de estas plántulas cambia.

En el proceso de reproducción acelerada, es habitual el uso de sustratos certificados producidos en empresas especializadas que responden por su calidad. 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 las aguas de riego (Pérez-Ponce, 1997, comunicación personal y Borroto, 1997, comunicación personal). La utilidad de la zeolita como mejorador de suelo en caña de azúcar la han presentado entre otros, Cairo *et al.* (1995).

Como muy reducida pudiera también clasificarse la información que se haya en la literatura nacional. En ella se destacan los trabajos realizados en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba por Blanca de la Noval, Fernández y Herrera (1995), quienes subrayaron las bondades de la zeolita como componente del sustrato para la adaptación de vitroplántulas de piña. Por su parte, Terán, Gras y Plana (1996) a partir de la evaluación de diferentes sustratos contenidos en canaletas, destacaron el uso de la zeolita en su fórmula NEREA III más cachaza como un sustrato efectivo para la adaptación de vitroplántulas de caña de azúcar.

El objetivo de este trabajo estuvo encaminado al perfeccionamiento de la tecnología de producción de vitroplantas de caña de azúcar que se aplica en Cuba, realizando diversos experimentos dirigidos a la evaluación del tipo de sustrato.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de los diferentes estudios se tomaron vitroplantas disponibles en las biofábricas. Previo a su trasplante estas se seleccionaron, a fin de garantizar la mayor uniformidad dentro y entre cada tratamiento. En todos los estudios cada variante siempre estuvo representada por una cajuela (de 120 ó 247 alvéolos). Los experimentos se ejecutaron en las instalaciones de las biofábricas de la EPICA Villa Clara y Pinar del Río, recibiendo cada uno las atenciones establecidas.

Como testigo se utilizaron el compost al 100 % en Villa Clara y la turba al 100 % en Pinar del Río. Las diferentes combinaciones aparecen en la Tabla I. Como elemento central en la composición de los sustratos evaluados fue incluida la zeolita en su forma litonita (Tabla II), por su adecuado "efecto reserva", además de la mejora que produce en la aireación de las plantas al disminuir la compactación del sustrato. La composición de la cachaza utilizada se presenta en la Tabla III; para el desarrollo de los estudios se tomaron vitroplantas de las variedades C 8751 y C 1051-73.

Tabla I. Combinaciones volumétricas de los sustratos evaluados

Tratamiento	Humus	Cachaza	Litonita	Compost
Estudio 1 biofábrica Villa Clara (julio)				
Composición volumétrica del sustrato (%)				
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 (octubre)				
1	-	-	100	-
2	-	29	71	-
3	-	33	67	-
4	-	40	60	-
5	-	50	50	-
6	-	67	33	-
7	-	100	-	-
Testigo	-	-	-	100
Estudio 3 biofábrica Pinar del Río (noviembre)				
1	-	40	60	-
Testigo (turba)	-	-	-	100

En el primer experimento se hicieron mediciones de altura a 30 vitroplantas por variante de sustrato a los 20 días del trasplante, midiéndose desde la base hasta el último *dewlap* visible. Además, se hizo el conteo de ahijamiento para el cálculo del índice de multiplicación (experimentos 1 y 2). Para la estimación de este último se dividió la población total de hijos por cepellón entre el número de cepellones muestreados.

Tabla II. Composición de la litonita

Contenido mínimo de nutrientes garantizado ($kg.t^{-1}$)		Características	
N total	1.5	Densidad	0.9 g/cm^3
P_2O_5	0.9	Retención de agua	50 %
K_2O	8.3	pH	7.6
		Granulometría	1-2 mm

Oligoelementos: hierro, cobre, molibdeno, manganeso, zinc y boro

Según información del fabricante

Tabla III. Composición de la cachaza utilizada

pH	6.4
MO	24.37 %
N total	0.85 %
P	0.52 %
K	0.02 %
Granulometría	1-4 mm

Según resultados del laboratorio de análisis químico, INCA

En el experimento 1 se realizó el deshije de las vitroplantas a los 20 días y se trasplantaron los hijos (tallos secundarios) para igual sustrato que el inicialmente empleado para sus respectivas vitroplantas "madres" o tallos primarios.

A los 45 días del trasplante se muestrearon 15 cepellones representativos de cada variante de sustrato (experimento 1) y se realizaron las siguientes determinaciones:

- altura de las vitroplantas (mm)
- longitud de la lámina de la hoja + 1 (mm)
- ancho de la lámina de la hoja + 1 (mm)
- masa fresca foliar (g)
- masa seca foliar (g).

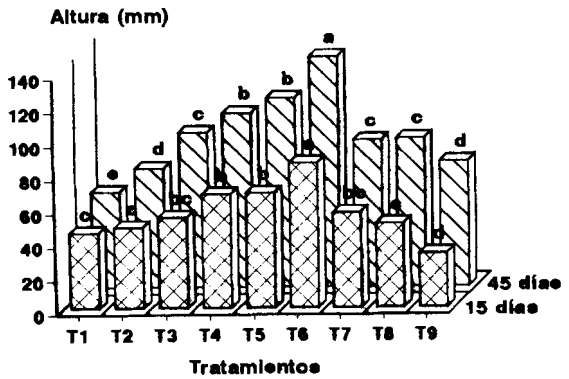
En los experimentos 2 y 3 se midieron 25 vitroplantas por tratamiento a los 30 días del trasplante. En ambos experimentos se evalúo el tiempo de permanencia de cada tratamiento en la fase de adaptación según su desarrollo.

Para el análisis de los datos se hallaron los intervalos de confianza de la media para un 95 % de probabilidad, a partir de los valores de las medias y sus correspondientes errores estándar. Con esa información se hicieron los contrastes de medias y con ella se estableció la diferencia entre estas. En el primer experimento se realizaron correlaciones simples de las diferentes variables evaluadas con respecto a la altura del tallo primario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de las vitroplantas. La altura medida a los 15 y 45 días en el experimento 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 mez-

clas 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* empleado en la biofábrica (testigo) y superiores además a las alturas de las vitroplantas crecidas en los sustratos compuestos por humus (100 %) y cachaza (100 %). Bascuñan *et al.* (1995) informan la influencia positiva de la zeolita en la germinación y el crecimiento.



ES x̄ 15 días	3.13	3.61	4.44	2.14	3.51	4.07	4.28	3.07	1.53
ES x̄ 45 días	3.60	2.38	2.67	3.33	4.48	4.84	3.05	2.74	1.87

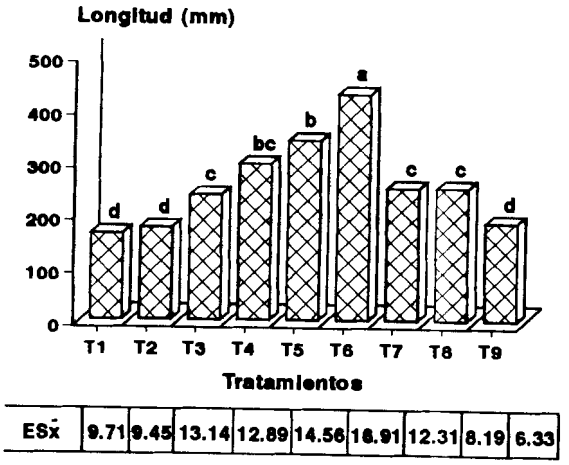
Figura 1. Altura de las vitroplantas a los 15 y 45 días (experimento 1), biofábrica Villa Clara

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 %, 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 + litonita (40-60 %), las vitroplantas alcanzaron a los 15 días una altura (86 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.

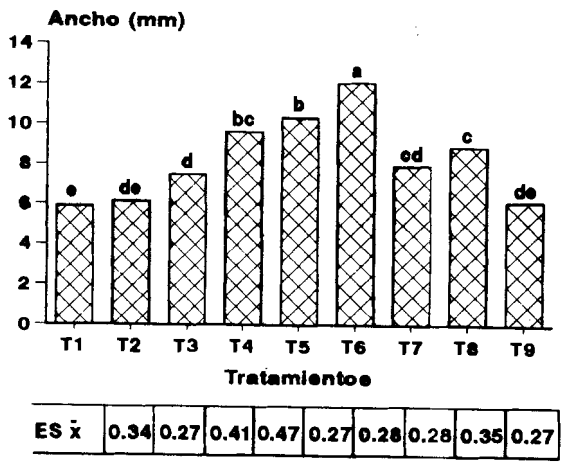
La combinación cachaza con litonita 40-60 % se distinguió igualmente por el aumento en la altura de los 15 a los 45 días.

Dimensiones de la lámina de la hoja + 1. 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).



ES x̄	9.71	9.45	13.14	12.89	14.56	18.91	12.31	8.19	6.33

Figura 2. Longitud de la lámina a los 45 días (experimento 1), biofábrica Villa Clara

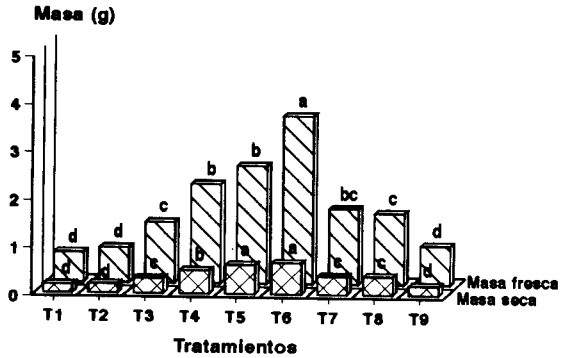


ES x̄	0.34	0.27	0.41	0.47	0.27	0.28	0.28	0.35	0.27

Figura 3. Ancho de la lámina a los 45 días (experimento 1), biofábrica Villa Clara

Masas fresca y seca foliares de las vitroplantas. Las masas medidas a los 45 días (Figura 4) guardaron una relación muy estrecha con la altura de las vitroplantas y la longitud y el ancho de la lámina de la hoja. Así, en esta variable se distinguieron igualmente los sustratos con litonita con valores de masas fresca y seca foliares significativamente superiores a los sustratos con humus (100 %), cachaza (100 %) y compost (100 %).

Desarrollo general de las vitroplantas. Al valorar de forma integral las variables evaluadas, se observa una correspondencia entre la altura de las vitroplantas y su vigor general, lo que se demuestra al valorar la asociación de esta con respecto al resto de las variables (Tabla IV); la altura a los 20 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 experimentos.



ES x̄ MF	0.07	0.08	0.12	0.17	0.25	0.23	0.20	0.12	0.06
ES x̄ MS	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02

Figura 4. Masas fresca y seca foliares a los 45 días (experimento 1), biofábrica Villa Clara

Tabla IV. Asociación de las variables evaluadas con respecto a la altura

Edad de la planta	Hoja + 1 Longitud	Hoja + 1 Ancho	Número de hijos	Masa foliar fresca	Masa foliar seca
20 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 $p < 0.05$

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

Tabla V. Altura de las vitroplantas en los diversos experimentos ejecutados en las biofábricas

Experimento	Biofábrica	Tratamientos	Altura (mm)	ES x̄
1	Villa Clara	Cachaza + litonita	136 a	±4.84
		Testigo (compost)	74 b	±1.87
		Cachaza (100 %)	71 b	±2.38
		Humus (100 %)	57 c	±3.60
2	Villa Clara	Cachaza + litonita	130 a	±4.23
		Testigo (compost)	65 b	±3.28
3	Pinar del Río	Cachaza + litonita	68 a	±4.02
		Testigo (turba)	44 b	±3.28

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 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, principal problema confrontado en la biofábrica de Pinar del Río. Los resultados del primer estudio fueron corroborados en los dos estudios siguientes. Por otro lado, se observó una disminucion considerable en el crecimiento de las vitroplantas sembradas en julio/96 en comparación con las sembradas en noviembre/96; el comportamiento, en general, es 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). Teran *et al.* (1996) destacaron el uso en canaletas de la zeolita en su fórmula NEREA III, parecida en sus propiedades a la litonita utilizada como apropiada para el crecimiento de las vitroplantas. López, Arias y Guerrero (1995) evaluaron la efectividad de la zeolita mezclada con material orgánico en sustratos para plántulas de ornamentales.

La baja permeabilidad y escasa aireación de los sustratos orgánicos 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.

Coeficiente de multiplicación. En los dos experimentos donde se evaluó el coeficiente de multiplicación, la mezcla cachaza + litonita dio los mejores resultados con coeficientes multiplicativos muy superiores al testigo (Tabla VI). 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 experimento 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 + litonita en el ahijamiento de las vitroplantas. Tal reducción en dichos valores se halla evidentemente relacionado con el reconocido efecto de las condiciones climáticas en el desarrollo de la caña. 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 traduce en un aumento sustancial del potencial productivo de las biofábricas con un mínimo de costo.

Tabla VI. Coeficiente multiplicativo de los experimentos ejecutados en la biofábrica de Villa Clara

Experimento	Fecha	Tratamientos	Coeficiente	ES x̄
1	4/7/96	Cachaza + litonita	3.2 a	±0.92
		Testigo (compost)	1.3 b	±0.24
2	23/9/96	Cachaza + litonita	0.6 a	±0.21
		Testigo (compost)	0 b	

En la Figura 5 se presenta la comparación del desarrollo de los hijos obtenidos de la mezcla cachaza + litonita deshijados a los 20 días de sus plantas madres en el experimento 1, con respecto a las 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. Teran *et al.* (1996) presentaron índices multiplicativos muy satisfactorios al usar la cachaza y la zeolita de forma mezclada.

Tiempo de permanencia. El sustrato cachaza + litonita logró disminuir el tiempo de estancia de las vitroplantas en la fase de adaptación (Tabla VII), 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 a 12 ciclos/año con la misma capacidad instalada, o lo que es lo mismo, aumentar en un 50 % la capacidad instalada.

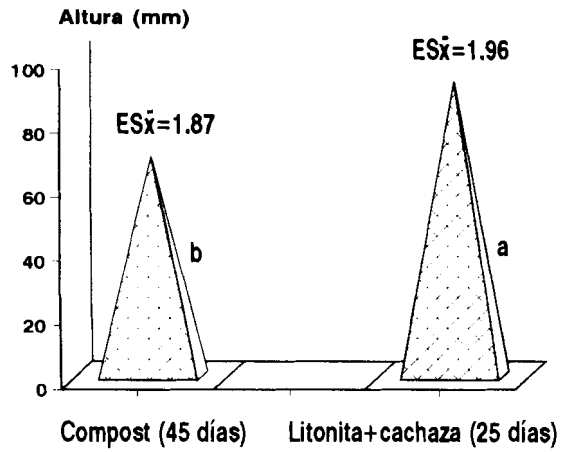


Figura 5. Altura de los hijos en litonita + cachaza y de las plantas madres en el compost (experimento 1), biofábrica Villa Clara

Tabla VII. Tiempo de permanencia (días) para la obtención del vigor necesario en el traslado de las vitroplantas

Experimento	Biofábrica	Fecha	Tratamiento (días)	Tiempo permanencia	ES $\bar{x}$
1	Villa Clara	4/7	Cachaza + litonita	30 a	±3.45
2	Villa Clara	23/9	Testigo (compost)	45 b	±4.12
3	Pinar del Río	28/11	Cachaza + litonita	34 a	±2.84
			Testigo (compost)	51 b	±3.47
			Cachaza + litonita	40 a	±3.72
			Testigo (turba)	56 b	±5.02

RECOMENDACIONES A LA TECNOLOGÍA

- Sustituir el uso del sustrato orgánico al 100 % (cachaza, humus, compost y turba) por la mezcla de cachaza al 40 % + litonita al 60 %. La cachaza a utilizar debe estar "curada" por espacio de al menos ocho meses y libre de cualquier impureza, tamizada con granulometría de 1-4 mm; la litonita debe cumplir los requisitos de enriquecimiento en nutrientes que certifica el fabricante.
- Durante el período de marzo-octubre, realizar el deshije de las cajuelas entre los 15-20 días posteriores al trasplante de las plántulas. Entre noviembre-febrero se debe valorar si se justifica esa práctica.

REFERENCIAS

Bascuñan, C. /et al./. Influencia de la clinoptilolita en la germinación y crecimiento de tomates. Revista CNIC 26:162, 1995.

Cairo, P. /et al./. Propuestas de alternativas para el uso de la zeolita natural como fertilizante y mejorador de los suelos de mal drenaje dedicados a la caña de azúcar. Revista CNIC 26:164, 1995.

Debergh, P. y L. Maene. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientia Hort. 14:335-345, 1985.

López, N., E. Arias y A. Guerrero. Aplicación de la zeolita natural en sustratos para adaptación de plantas ornamentales. Revista CNIC 26:163, 1995.

Murashige, T. y F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:437-497, 1962.

Noval, Blanca de la, F. Fernández y R. Herrera. Efecto del uso de micorriza arbuscular y combinaciones de sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña. Cultivos Tropicales 16(1):19-22, 1995.

Preece, J. E. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and the field. /J. E. Preece, E. G. Lutter.- En: Micropropagation. The Netherlands : Kluwer Academic Publishers, 1991.- p. 71-93.

Terán Z., G. Grass y R. Plana. Sustratos más eficientes con zeolita para la adaptación de vitroplantas de caña de azúcar. Cultivos Tropicales 17(3):47-52, 1996.

Recibido: 5 de diciembre de 1997
Aceptado: 9 de enero de 1998