

EVALUACIÓN DEL PECTIMORF COMO COMPLEMENTO DEL 2,4-D EN EL PROCESO DE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum spp*)

Nadina Nieves[✉], Adelaida Poblete, Mariela Cid, Yarianne Lezcano, J. L. González-Olmedo y J. C. Cabrera

ABSTRACT. Sugarcane constitutes the main component of Cuban sugar industry; its reproduction is made vegetatively, since seeds are only used for genetic works searching new varieties. The necessity of other alternatives for crop propagation is an important task within crop biotechnology. The somatic embryogenesis is an interesting alternative of culture for this species, but among the disadvantages of this technology is the asynchronic embryo formation, which constitutes a difficulty at a commercial scale production. The objective of this work was to determine the effect of a Cuban bioregulator, Pectimorf, on callus formation processes and somatic embryo differentiation in sugarcane and to evaluate its effect on process synchrony. Pectimorf was added in doses of 3.0, 5.0 and 7.0 mg.L⁻¹, combined with 3.0 and 1.5 mg.L⁻¹ 2,4-D. Pectimorf showed no effect on callus formation with embryogenic structures (CCEE). The combination of 5.0 mg.L⁻¹ Pectimorf with 1.5 mg.L⁻¹ 2,4-D had a positive effect on embryo formation, favouring the number of embryos per gram of tissue and its homogeneity in the advanced states of development.

RESUMEN. La caña de azúcar constituye el principal componente en la industria azucarera cubana; su reproducción se realiza por la vía vegetativa, ya que las semillas sirven únicamente para los trabajos de genética, en busca de nuevas variedades. La necesidad de vías alternativas para la propagación del cultivo es una tarea importante dentro de la biotecnología vegetal. La embriogénesis somática es una alternativa interesante de cultivo para esta especie, pero dentro de los inconvenientes que presenta esta tecnología está la asincronía en la formación de embriones, lo que constituye una dificultad cuando se quiere llevarla a escala comercial. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un biorregulador cubano, Pectimorf, en los procesos de calogénesis y diferenciación de embriones somáticos en la caña de azúcar y evaluar cómo se observa este efecto en la sincronía del proceso. La adición de Pectimorf en dosis de 3.0, 5.0 y 7.0 mg.L⁻¹, combinado con 2,4-D en concentraciones de 1.5 y 3.0 mg.L⁻¹, no mostró ningún efecto en la formación de callos con estructuras embriogénicas (CCEE). La combinación de 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf con 1.5 mg.L⁻¹ de 2,4-D tuvo un efecto positivo sobre la formación de embriones, favoreciendo el número de embriones por gramo de tejido y la homogeneidad de estos en los estados más avanzados de desarrollo.

Key words: auxins, oligosaccharides, somatic embryos, sugarcane, plant growth substances

Palabras clave: auxinas, oligosacáridos, embrión somático, caña de azúcar, sustancias de crecimiento vegetal

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es una planta espontánea y perenne. Se cultiva polianual, por períodos de tiempo que varían de acuerdo con las zonas, técnicas de cultivo y variedades. La reproducción se realiza por la vía vegetativa, con un alto consumo del material que se dedica a la in-

dustria. Esta es una fase que requiere un elevado consumo de mano de obra, es agotadora y no resuelve los problemas de enfermedades sistémicas. En este cultivo la producción por semillas sirve únicamente para los trabajos de genética, en busca de nuevas variedades. La búsqueda de vías alternativas para su propagación es una tarea importante en la biotecnología vegetal. Dentro de estas vías alternativas, se encuentra la embriogénesis somática (1).

Desde el punto de vista convencional, la embriogénesis somática incluye varios pasos: inducción, sincronización, elongación de embriones, depósito de reservas, maduración, secado y almacenaje (2). En términos de nutrición, hay cuatro factores que influyen en el desarrollo de los embriones: auxinas, carbohidratos, nitrógeno y ácido abscísico. La remoción de auxinas es clave en permitir que las células proembrionarias inicien

Nadina Nieves, Investigador Auxiliar; Ms.C. Mariela Cid y Yarianne Lezcano, Especialistas y Dr.C. J. L. González-Olmedo, Investigador Titular del Laboratorio de Células y Cultivos de Tejidos, Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila (UNICA), carretera Morón km 9, CP 69450, Ciego de Ávila; Dr.C. J. C. Cabrera, Investigador Auxiliar del Departamento de Fisiología y Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP 32 700, Cuba; Adelaida Poblete, Especialista Forestal, FORMIN L.A., Laboratorio de Biotecnología, Chile

✉ nnieves@bioplasmas.cu

su desarrollo a través de las etapas globular, corazón, torpedo y cotiledonar (3). En varias especies de plantas, muchos de los estudios en este campo se dirigen hacia la identificación de los factores externos que controlan la embriogénesis somática (4, 5, 6, 7, 8).

La asincronía en la producción de embriones es un problema que se presenta en mayor o menor grado en la embriogénesis somática, dependiendo de la especie de la cual se trate. Esto constituye un problema cuando se quiere llevar esta tecnología a escala de producción operacional. En todas las etapas de esta tecnología, los reguladores de crecimiento juegan un papel preponderante (1). Algunos plantean que las hormonas vegetales, como las auxinas y giberelinas, pueden actuar a través de la activación de enzimas endógenas vegetales, que liberan oligosacáridos de la pared celular de la planta, siendo estos últimos los que de manera directa y específica regulan muchos de los procesos fisiológicos, que se observan en la formación de órganos. Estos oligosacáridos no solo desempeñan una función estructural sino que además son liberados durante su degradación, constituyéndose en moléculas señalizadoras en importantes procesos fisiológicos de las plantas, relacionados con el crecimiento y la estimulación de los mecanismos de defensa endógenos contra el ataque de plagas y enfermedades. Este tipo de molécula es conocida en la literatura científica como Oligosacarininas (9).

El Pectimorf es un nuevo biorregulador cubano, obtenido a partir de residuos de la industria citrícola, cuyo principio activo es una mezcla de α (1-4) oligogalacturonidos con grado de polimerización mayor de 7. Su efecto biológico, en casi todos los casos estudiados, parece estar relacionado con la acción auxínica. La capacidad del Pectimorf para inducir y desarrollar el enraizamiento, estimular el crecimiento de los callos, catalizar la desagregación celular de estos cuando se desea obtener suspensiones celulares e incrementar de forma notable el desarrollo y vigor de las vitroplantas de los diferentes cultivos, validan a este como una alternativa promisoría en la biotecnología vegetal (9, 10). Evaluar el Pectimorf como complemento del 2,4-D en la formación de callos y sincronía de la diferenciación de embriones somáticos en la caña de azúcar es el objetivo del presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en caña de azúcar variedad CP52-43, un híbrido proveniente de CP43-64 x CP38-34, Canal Point, FL, USA. Se utilizó la hoja más interna, enrollada, de plantas cultivadas en el campo. Las hojas más externas se eliminaron y los cilindros, de aproximadamente 10 cm de largo, se sometieron al proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 2 % durante 10 minutos. En el flujo laminar se eliminaron las hojas externas restantes hasta llegar a la más interna, la cual se cortó en secciones de 1 cm de largo, para su implanta-

ción en placas de Petri que contenían 25 mL de medio de formación de callos compuesto por el medio basal MS (11), enriquecido con 30 g.L⁻¹ de sacarosa, 50 mg.L⁻¹ de arginina, con las modificaciones siguientes en cuanto al regulador del crecimiento establecido para el medio (Tabla I).

Tabla I. Combinaciones de 2,4-D y Pectimorf utilizadas para la inducción de callo en tejido de caña de azúcar

Regulador	Concentración (mg.L ⁻¹)							
2,4 D	3.0	3.0	3.0	3.0	1.5	1.5	1.5	1.5
Pectimorf	0.0	3.0	5.0	7.0	0.0	3.0	5.0	7.0

Se colocaron seis segmentos por placa de Petri, para un total de 18 segmentos por tratamiento. Las placas se incubaron en oscuridad por 21 días a 25 ± 2°C. Al cabo de este período se realizó una primera evaluación, que consistió en determinar: formación de callos por segmento, tamaño de los callos, ubicación en el segmento (en un extremo, en ambos y en la periferia) y aspecto de los callos.

A partir de entonces, los callos neoformados se separaron del segmento y se colocaron en un medio similar para completar su desarrollo durante otros 21 días. Finalizado este período, se realizó una segunda evaluación, que consistió en determinar: número de callos formados por tratamiento y masa fresca de callos con estructuras embriogénicas (CCEE) (g).

A continuación se seleccionaron segmentos de callos de aproximadamente 50 mg, de los cuales se colocaron ocho por placa de Petri en cuatro placas por tratamiento. Estos se subcultivaron en el medio de diferenciación y maduración de embriones descrito por Tapia *et al.* (11), que contiene las sales de MS suplementadas con 1 mg.L⁻¹ de tiamina, 60 g.L⁻¹ de sacarosa y 1 mg.L⁻¹ de ácido naftalenacético (ANA). Las placas se incubaron en oscuridad a 25 ± 2°C durante siete días y luego se colocaron a la luz hasta la aparición de los embriones. En este momento se evaluaron: número de embriones por tratamiento y clasificación de embriones en: globulares, escutelar temprano y escutelar tardío. El experimento fue repetido en tres ocasiones.

Análisis estadístico. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete SPSS (versión 8.0 para Windows). Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple y en los casos en que se presentaron diferencias estadísticas, se procedió a ejecutar la prueba de Rangos Múltiples de Duncan con $\alpha=0.05$. Los datos porcentuales se transformaron mediante la ecuación $x' = 2 \arcsin((x/100)^{0.5})$, mientras que para los datos discretos se utilizó la ecuación $x' = (x + 0.5)^{0.5}$. Para el factor "Concentración de 2,4-D", el cual consta de dos niveles, se realizó la prueba de *T-Student* para determinar si existen diferencias significativas entre estos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento en la formación de callos provocado por las combinaciones del Pectimorf con el 2,4-D en las dosis de 1.5 y 3.0 mg.L⁻¹ se muestra en la Tabla II.

Tabla II. Comportamiento de las combinaciones de Pectimorf y 2,4-D en la formación de callos a partir de explantes de hojas de caña de azúcar var CP52-43

Concentración de 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Concentración de Pectimorf (mg.L ⁻¹)	Porcentaje
1.5	0.0	100
	3.0	94.4
	5.0	100
	7.0	100
3.0	0.0	100
	3.0	100
	5.0	94.4
	7.0	100
Sig.	-	NS*

* NS: No significativo

En la evaluación realizada a los 21 días después de colocados los explantes en medio de inducción de callos (Tabla II), se observó que entre el 94,4 y 100 % de los explantes establecidos en todos los tratamientos presentaron formación de callos, los que se distribuyeron en ambos extremos y en la periferia de los explantes independientemente de los tratamientos. No se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, ni en el tamaño y la coloración de los callos en ninguna de las combinaciones ensayadas.

A los 42 días después de iniciado el experimento, en el momento de colocar los callos en medio de inducción de embriones, se evaluó la masa fresca de callos con estructuras embriogénicas, en los distintos tratamientos (Tabla III).

Tabla III. Efecto de la combinación de diferentes concentraciones de Pectimorf con dos niveles de 2,4-D, en la formación de callos con estructuras embriogénicas (CCEE) en caña de azúcar

Concentración de 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Concentración de Pectimorf (mg.L ⁻¹)	Masa fresca de CCEE/50 mg de callo (g)
1.5	0.0	1.57 ± 0.18
	3.0	1.43 ± 0.33
	5.0	1.12 ± 0.06
	7.0	1.43 ± 0.37
3.0	0.0	1.57 ± 0.52
	3.0	1.67 ± 0.13
	5.0	1.73 ± 0.42
	7.0	2.30 ± 0.21
Sig.	-	NS*

* NS: No significativo

Como se observa en la Tabla III, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos al combinar diferentes concentraciones de Pectimorf con 1.5 y 3.0 mg.L⁻¹ de 2,4-D en la masa fresca de los CCEE, aunque se evidencia un aumento paulatino de esta en la medida que se incrementa la concentración del Pectimorf combinado con 3 mg.L⁻¹ de 2,4-D.

La acción del Pectimorf en la formación de callos ha sido estudiada en varios cultivos con distinta respuesta. Algunos encontraron un efecto estimulador de este oligogalacturonido en el crecimiento de los callos de diferentes cultivos (10). En el cultivo de papa, *Solanum tuberosum*, se detectaron resultados positivos en el incremento de la masa fresca del callo con la adición de Pectimorf (3.2 mg.L⁻¹) en combinación con AIA (13). Efectos similares fueron encontrados en el cultivo de *Anthurium cubense* (14), al utilizar concentraciones de Pectimorf establecidas dentro del rango de 2 a 4 mg.L⁻¹. En café se logró estimular la formación de CCEE al utilizar tres dosis de Pectimorf (15) como sustitutos de la kinetina. Iguales resultados fueron publicados en la misma especie (16), pues se obtuvieron respuestas positivas en el porcentaje de CCEE a los 30 y 45 días de cultivo. Por otra parte, en *Solanum tuberosum* se obtuvieron porcentajes superiores en la formación de callos (17) con estructuras embriogénicas, así como un incremento en su masa fresca, al utilizar el producto como sustituto de la kinetina en presencia de 2,4-D. En este caso, el oligosacárido contribuyó a la movilización de las citoquininas endógenas necesarias para un adecuado desarrollo y calidad del callo, en su acción sinérgica con el 2,4-D.

Por otra parte, en un estudio realizado en *Solanum tuberosum* (17), se demostró que no existe un efecto del biorregulador en la formación de callo al ser usado como sustituto del 2,4-D en las dosis de 1 y 10 mg.L⁻¹; en este caso, el Pectimorf no logró estimular los niveles endógenos de la auxina necesarios para los procesos de división celular. En café, no se encontró respuesta positiva en la formación de CCEE (16) al ser empleado el Pectimorf como sustituto del 2,4-D, lo cual puso de manifiesto el requerimiento de la auxina para que este ejerza su acción reguladora.

De los resultados obtenidos en el trabajo, se pone de manifiesto que el Pectimorf, en las dosis empleadas, no ejerció el efecto estimulador esperado sobre la formación de callos en el cultivo de la caña de azúcar, como se ha demostrado en otras especies de plantas. Aunque, si se valora el comportamiento mostrado en la tendencia al incremento de la masa fresca de los callos en las combinaciones del oligosacárido con la dosis de 3.0 mg.L⁻¹ de 2,4-D, parece indicar que no se alcanzó la dosis óptima de Pectimorf requerida para establecer el sinergismo esperado en la callogénesis en esta especie de planta.

El efecto de las combinaciones de Pectimorf y 2,4-D sobre la diferenciación de embriones somáticos en la caña de azúcar se muestra en la Tabla IV.

Tabla IV. Efecto de la combinación de diferentes concentraciones de Pectimorf y 2,4-D utilizadas en la formación de callos sobre la diferenciación de embriones somáticos

Concentración de 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Concentración de Pectimorf (mg.L ⁻¹)	Embriones/g de callo
1.5	0.0	41.0 b
	3.0	199.9 a
	5.0	255.6 a
	7.0	102.0 b
3.0	0.0	87.3 b
	3.0	86.3 b
	5.0	188.9 a
	7.0	99.4 b
ES		11.52

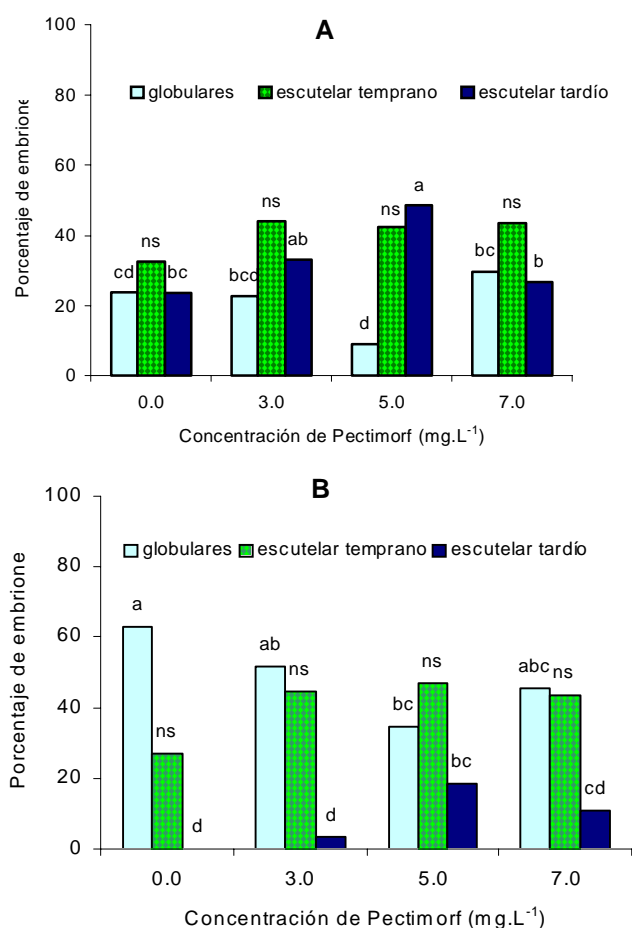
*Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según ANOVA y prueba de Duncan, para P=0.05

Al analizar la formación de embriones/g de callo, se observa que los mejores resultados se alcanzaron en los callos con estructuras embriogénicas formados por la combinación de 1.5 mg.L⁻¹ de 2,4-D y 3.0 y 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf, las cuales no difieren con el tratamiento de 3.0 mg.L⁻¹ de 2,4-D y 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf, pero sí con el resto. La concentración de 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf, independiente de la concentración de 2,4-D ensayada, favoreció la diferenciación de embriones en mayor medida que el resto de las concentraciones.

Resulta interesante señalar que en los controles sin Pectimorf, la mayor concentración de la auxina fue la que produjo el mayor número de embriones por gramo de tejido, con valores que duplican la cifra obtenida en la dosis de la hormona reducida a la mitad.

La Figura 1 muestra el resultado de la evaluación de los embriones clasificados en los diferentes estados de desarrollo: (A) contiene las combinaciones de Pectimorf con la dosis de 1.5 mg.L⁻¹ de 2,4-D y (B) las combinaciones con la dosis más alta de la auxina.

El efecto del Pectimorf en los tratamientos con 1.5 mg.L⁻¹ de 2,4-D se representa en la Figura 1A, en la cual se puede observar que sin Pectimorf la formación de embriones es poco homogénea, encontrándose embriones en todos los estados de desarrollo evaluados (globular, escutelar temprano y escutelar tardío) en similares proporciones. Es de señalar que en la concentración de 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf es donde se logra concentrar la formación de embriones, con un predominio de los estados más avanzados de desarrollo. En este tratamiento casi el 50 % de los embriones se encuentra en el estado más avanzado de desarrollo (escutelar tardío), el 40 % en escutelar temprano y un pequeño porcentaje en estados tempranos (globulares), lo cual hace que más del 90 % de los embriones se encuentren en estado escutelar, con una reducción marcada en la dispersión del proceso.



Letras desiguales reflejan diferencias estadísticas según ANOVA, Duncan $p < 0.05$

Las diferencias se establecen entre las variables y se incluyen ambas figuras

Figura 1. Efecto de la combinación de diferentes concentraciones de Pectimorf con 1.5 mg.L⁻¹ (A) y 3.0 mg.L⁻¹ de 2,4-D (B) sobre la formación de embriones somáticos.

Al evaluar el efecto del Pectimorf en los tratamientos con 3.0 mg.L⁻¹ de 2,4-D, sobre la formación de embriones (Figura 1B), se observa que el mayor porcentaje de embriones se encuentra en los estados tempranos, fundamentalmente en el estado globular (más del 60 %). A medida que aumenta la concentración de Pectimorf, se observa la presencia de embriones en estados más avanzados de desarrollo, con similar tendencia que en las combinaciones con la dosis reducida de 2,4-D. En los estados globular y escutelar temprano no se encontraron diferencias estadísticas, pero sí en el escutelar tardío con la dosis de 5 mg.L⁻¹.

Al comparar solo el efecto del 2,4-D (tratamiento control), en ambas dosis, se observa que con la dosis más alta, existe mayor presencia de embriones en estados más tempranos de desarrollo, mientras que con la menor dosis se acelera el proceso de desarrollo de los embriones a estados más avanzados.

En el estudio del Pectimorf, la mayoría de los trabajos señalados en la literatura se relacionan con la formación de callo y el enraizamiento de tejidos; sin embargo, para la diferenciación de embriones somáticos y más específicamente para mejorar la sincronía del desarrollo de estas estructuras no se tienen referencias. En el cultivo de papa, *Solanum tuberosum*, la combinación de AIA con Pectimorf (0.1 y 3.2 mg.L⁻¹ respectivamente) no presentó diferencias significativas en la diferenciación del tejido y formación de embriones (13), a diferencia de lo publicado en el mismo cultivo al combinar Zeatina con Pectimorf (0.5 y 3.2 mg.L⁻¹ respectivamente), donde sí se encontró efecto positivo sobre la formación de embriones somáticos.

Los resultados encontrados en el trabajo sugieren que el Pectimorf ejerce un efecto inductor sobre los procesos de diferenciación de embriones somáticos en la caña de azúcar, con una marcada tendencia a acelerar los procesos de desarrollo de estos hacia los estadios superiores con una mayor sincronía del proceso. Sin embargo, existen aún aspectos que no quedan claros en el estudio realizado.

Algunos han postulado que estos oligosacáridos interactúan con los sitios de enlace de las auxinas en la membrana celular (9); este descubrimiento no solo apoyaba la hipótesis del efecto antiauxínico sino que además sugería que los oligogalacturonidos actúan a nivel de la membrana. En el caso nuestro, el efecto observado no parece estar directamente asociado con un efecto antiauxínico, sino más bien que actuó a través de mecanismos diferentes, si tenemos en cuenta que el mayor número de embriones y la mayor sincronía ocurrió en aquellas combinaciones en las cuales el 2,4-D estaba reducido, fundamentalmente en la concentración de 5.0 mg.L⁻¹ del oligosacárido. Por otra parte, si analizamos que en la formación de masa fresca de los callos, las concentraciones mayores de 2,4-D mostraron incrementos en la medida que se incrementó el Pectimorf, consideraríamos que se manifestó un efecto sinérgico.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, es evidente la necesidad de profundizar en los mecanismos de acción de este producto al nivel molecular, para lograr elucidar cuáles son realmente las vías con las que ejerce su acción y su relación con la principal hormona involucrada en el proceso de la embriogénesis somática de la caña de azúcar, como son las auxinas.

CONCLUSIONES

- * La adición de Pectimorf en dosis de 3.0, 5.0 y 7.0 mg.L⁻¹, como complemento al 2,4-D, ensayado en concentraciones de 1.5 y 3.0 mg.L⁻¹, no tuvo efecto en la formación de CEE en el proceso de embriogénesis somática de tejidos de caña de azúcar.
- * La inclusión de concentraciones de 5.0 mg.L⁻¹ de Pectimorf, combinado con 1.5 mg.L⁻¹ de 2,4-D, en el medio de inducción de callos, tuvo un efecto positivo

sobre la posterior formación de embriones, favoreciendo el número de embriones por gramo de tejido y la homogeneidad de estos en los estados más avanzados de desarrollo.

- * El Pectimorf en combinación con el 2,4-D mostró un efecto sinérgico más que antiauxínico en la fase de histodiferenciación de la caña de azúcar.

REFERENCIAS

1. Castillo, R. La embriogénesis somática en la caña de azúcar (*Saccharum* spp Híbrido). [Tesis de grado]; INCA, 2001.
2. Guiderdoni, E.; Mérot, B.; Eksomtramage, T.; Paulet, F.; Feldmann, P. y Glaszmann, J. C. Somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum*, Species). En: Biotechnology in Agriculture and Forestry. En: Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed II. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 1995.
3. McKersie, B. y Bowley, S. Synseeds, Applications of synthetic seeds to crop improvement, 1993.
4. Singh, N. D.; Sahoo, L.; Sarin, N. B. y Jaiwal, P. K. The effect of TDZ on organogenesis and somatic embryogenesis in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp). *Plant Science*, 2003, vol. 164, p. 341-347.
5. Singh, N. D.; Kumar, P. A.; Jaiwal, P. K. *In vitro* regeneration and genetic transformation of pigeonpea. En: Biotechnology of Leguminosae: Transgenic Grain, Forage and Tree Legumes. The Netherlands : Kluwer Academia Publishers. 2002. p. 51-74.
6. Saly, S.; Joseph, C.; Corbineau, F.; Lelu, M. A. y Côme, D. Induction of secondary somatic embryogenesis in hybrid larch (*Larix x leptoeuropaea*) as related to ethylene. *Plant Growth Regulation*, 2002, vol. 37, p. 287-294.
7. Nieves, N.; Martínez, M. E.; Castillo, R.; Blanco, M. A. y González-Olmedo, J. L. Effect of abscisic acid and jasmonic acid on partial desiccation of encapsulated somatic embryos of sugarcane (*Saccharum* sp.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2001, vol. 65, p. 15-21.
8. Nieves, N.; Rodríguez, K.; Cid, M.; Castillo, R. y Núñez, M. Action of brassinosteroids on histodifferentiation and maturation of sugarcane somatic embryos. En: The Importance of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Plant Sciences, 2002, p. 321-330.
9. Coté, F. y Hahn, M. Los derivados de las oligosacarinas y su uso en la agricultura. *Plantarum Agric.*, 1994, vol. 13, no. 3, p. 16-19.
10. Cabrera, J. C.; Iglesias, R.; González, S.; Diosdado, E.; Gómez, R.; Izquierdo, H.; Rodríguez, T.; Cevallos, M. y Falcón, A. Aportes al conocimiento de la función de los fragmentos pécticos en la regulación del crecimiento y desarrollo vegetal. Evaluación de sus posibilidades biotecnológicas. Simposio Internacional de Biotecnología de las Plantas. En: Seminario Científico (6:2000: La Habana), CNIC. p. 17.
11. Murashige T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962, vol. 15, p. 473-497.
12. Tapia R.; Castillo, R.; Nieves, N.; Blanco, M. A.; González-Olmedo, J. L.; Sánchez, M. y Rodríguez, Y. Inducción, maduración y encapsulación de embriones somáticos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) var CP52-43. *Biotecnología Aplicada*, 1999, vol. 16, no. 1, p. 20-23.

13. Hidrovo, J. Caracterización morfo-histológica y bioquímica del proceso de embriogénesis somática en papa (*Solanum tuberosum* L.), utilización de biopreparados cubanos de producción comercial. [Tesis de grado]; Universidad Agraria de La Habana. 2002.
14. Montes, S.; Aldaz, J.; Caballs, M.; Cabrera, J. C. y López, M. Uso del biorregulador Pectimorf, en la propagación acelerada del *Anthurium cubense*. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 21, no. 3, p. 29-31.
15. Santos, J. Efecto de la actividad de un oligopectato en el proceso de calogénesis *in vitro* de *Coffea canephora* var. Robusta. [Trabajo de Diploma]; UNAH, 1998. 57 p.
16. Cevallos, M. Embriogénesis somática en el cultivo del cafeto (*Coffea* spp.). Determinación de marcadores morfo-histológicos y moleculares. [Tesis de Doctorado]; INCA, 2000. 131 p.
17. Moré, O. y González, M. E. Empleo del oligopectato Pectimorf sobre el desarrollo de callos embriogénicos en papa (*Solanum tuberosum*, L.). La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2002.

Recibido: 19 de abril de 2005

Aceptado: 13 de diciembre de 2005

Cursos de Verano

Precio: 320 CUC

Biotecnología

Coordinador: Dra.C. María M. Hernández Espinosa

Fecha: julio

Duración: 40 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (47) 86-3773
Fax: (53) (47) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu