

ACLIMATIZACIÓN DE PLÁNTULAS DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum sp. híbrido*) PROVENIENTES DE SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL

R. Rodríguez, Maritza Escalona, Yania Rodríguez, Mariela Cid y J. L. González-Olmedo

ABSTRACT. Sugarcane plantlets (*Saccharum sp. híbrido*) var. C-91-301 micropropagated by temporary immersion systems (TIS) were used as crop material to study their behavior during acclimatization phase, employing a substrate source of filter cake + ash mixtures (1:1, v:v). In the first experiment, the influence of different photosynthetic photon flux densities (PPFD) was studied on survival, growth and development of plantlets. The best results were obtained when a high intensity light was used. In a second experiment, plantlets were placed under the controlled conditions of a relative humidity, light (PPFD) and temperature in greenhouses with automated irrigation system. The best results of every parameter evaluated were achieved when outdoor conditions were managed. In the third experiment, at the beginning and every seven days until 42 days, fresh and dry weights, leaf and root numbers were evaluated. The behavior dynamics of each one confirms the increasing use of light and gradual decrease of relative humidity as an efficient management during acclimatization, firstly expressed by a higher survival rate to 95 % and notable increases of plantlet growth and development. In the process, an increase in stomatal density and leaf area was observed differently from the trend evaluated in chlorophyll contents. The photosynthetic activity of plantlets under natural light conditions makes growth less dependent upon agrotechniques in this phase.

Key words: sugarcane, *in vitro* culture, physiological adaptation, illumination, survival, environmental control

INTRODUCCIÓN

La aclimatización es la etapa final de un protocolo de micropropagación. Durante esta etapa las plántulas deben adaptarse a nuevas condiciones ambientales en

R. Rodríguez, Investigador Agregado del Grupo de Propagación Masiva de Plantas (bioclima@unica.edu.cu); Dr. Maritza Escalona, Investigadora Titular; Yania Rodríguez, Investigadora; Mariela Cid, Especialista y Dr. J. L. González-Olmedo, Investigador Titular del Laboratorio de Propagación Masiva de Plantas, Centro de Bioplasmas, UNICA, carretera a Morón km 9, Ciego de Ávila, Cuba.

RESUMEN. Las plántulas de caña de azúcar (*Saccharum sp. híbrido*) var. C-91-301 micropropagadas en sistemas de inmersión temporal (SIT) sirvieron como material vegetal para estudiar su comportamiento durante la fase de aclimatización, empleando como sustrato la mezcla de cenizas + cachaza (1:1 v:v). En un primer experimento se estudió la influencia del manejo de diferentes intensidades lumínicas (DFFF) sobre la supervivencia y el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los mejores resultados se alcanzaron cuando se realizó un gradiente creciente y relativamente alto de las intensidades de luz. En un segundo experimento, las plántulas se colocaron en condiciones controladas de humedad relativa, luz (DFFF) y temperatura en casas de cultivo con sistema de riego automatizado. Los mejores resultados en los parámetros evaluados fueron alcanzados cuando se manejaron las condiciones de exteriores. En el tercer experimento, en el momento inicial y cada siete hasta los 42 días se evaluaron las variables masas fresca y seca, número de hojas y raíces. Las dinámicas del comportamiento de cada una de ellas ratifica el criterio del empleo creciente de la luz y la disminución gradual de la humedad relativa, como un manejo eficiente durante la aclimatización, dada primeramente por el porcentaje de supervivencia superior a 95 % y por los marcados incrementos en las variables de crecimiento y desarrollo evaluadas. En el proceso se aprecian aumentos en la densidad estomática y el área foliar, a diferencia de la tendencia evaluada en los contenidos de clorofilas. La actividad fotosintética que garantiza la exposición a la luz solar, hace que el crecimiento de las plántulas sea menos dependiente de las actividades agrotécnicas en esta fase.

Palabras clave: caña de azúcar, cultivo *in vitro*, adaptación fisiológica, iluminación, supervivencia, control ambiental

las casas de cultivo y por último a las de campo. El mal funcionamiento de las relaciones hídricas así como el pobre desarrollo del sistema fotosintético son las principales causas de la pobre supervivencia alcanzada en esta fase (1).

La caña de azúcar es el principal renglón de producción agrícola en Cuba. Los bajos rendimientos de las cosechas tienen entre sus principales causas el deterioro de las cepas de las actuales plantaciones. La necesidad de obtener semilla con alta calidad, pureza y libre de enfermedades en un tiempo relativamente corto ha per-

mitido la introducción de las técnicas de micropropagación. Esto ha motivado la producción masiva de vitroplantas en varios laboratorios comerciales, así como la ejecución de proyectos científicos que generen nuevos protocolos de cultivo *in vitro*, entre ellos los de sistemas de inmersión temporal (SIT) y embriogénesis somática (2). A pesar de la producción millonaria de plántulas, la cifra que llega a los campos es muy baja por deficiencias en las metodologías de aclimatación. Por estas razones, el presente trabajo pretende evaluar algunos componentes de una metodología de adaptación de vitroplantas de caña de azúcar para elevar los porcentajes de supervivencia y el crecimiento y desarrollo de las plantas provenientes de SIT, basados en el comportamiento de variables anátomo-fisiológicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron plántulas de caña de azúcar (*Saccharum sp. híbrido*) var. C-91-301 micropropagadas en sistemas de inmersión temporal (3). **Sustrato.** cachaza+ceniza 1:1, v:v. denominado bioplantitas (BP).

Las características químicas del sustrato se describen a continuación:

% N	% P	% K	% Ca	% Mg	% MO	% H ₂ O	pH
1.60	1.68	0.58	4.92	0.856	38	30.81	6.9

Experimento 1. Efecto de la luz sobre la supervivencia. Se emplearon cámaras de adaptación con cubiertas que permitían el paso del 20 % de la luz solar (433 $\mu\text{mol/s.m}^2$), 15 % (315 $\mu\text{mol/s.m}^2$), 10 % (240 $\mu\text{mol/s.m}^2$) y 5 % (114 $\mu\text{mol/s.m}^2$).

Se emplearon cuatro tratamientos que contaron con 40 plántulas en un diseño experimental completamente aleatorizado, donde se analizó cada planta como una unidad experimental.

Experimento 2. Efecto del manejo de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de las plántulas. Las provenientes de SIT se plantaron en bandejas de 144 alvéolos con sustrato BP en grupos de 40 vitroplantas en un diseño experimental completamente aleatorizado. Las plántulas se sometieron a los siguientes cambios ambientales:

Tratamiento I: En túnel inicialmente y luego trasladadas a cantero (95; 325 + 90;450)

Tratamiento II: En túnel inicialmente y luego trasladadas a exteriores (95; 325 + 80;4000)

Tratamiento III: En cantero durante todo el experimento (90;450)

Tratamiento IV: En cantero inicialmente y luego trasladadas a exteriores (90; 450 + 80;4000) (HR (%); DFFF ($\mu\text{mol/s.m}^2$)).

Se empleó un sistema automatizado de riego por microjet que garantizó humedad relativa superior al 90 % en las condiciones de túnel y cantero. En los momentos inicial y final del experimento a las plántulas se les evaluaron la masa fresca, el número de hojas fotosintéticamente

activas y el número de hijos. En esta última variable se realizó sólo la evaluación al final, ya que en el momento inicial este valor es cero por ser plantas individuales.

Experimento 3. Dinámica de crecimiento y desarrollo en las condiciones de aclimatación descritas. De los resultados alcanzados en el experimento 1, se seleccionó el tratamiento con mayores niveles de supervivencia, de modo que en los primeros 21 días las plántulas permanecieron en las condiciones ambientales de 90 % HR y 433 $\mu\text{mol/s.m}^2$ de DFFF; luego de este tiempo se trasladaron a exteriores donde las condiciones ambientales fueron 80 % HR y 4000 $\mu\text{mol/s.m}^2$. Las evaluaciones luxométricas y de humedad relativa se realizaron a las 9:00 am, 12:00 m y 4:00 pm durante el tiempo que duró el experimento. Las evaluaciones fueron realizadas cada siete y hasta los 42 días; las variables evaluadas fueron las masas fresca y seca (g), número de hojas y raíces, densidad estomática (en microscopio OPTON), área foliar y contenido de clorofilas (4). El incremento de la tasa de crecimiento es expresado como los valores calculados por la división de la diferencia entre la masa fresca final (MF_f) y la inicial (MF_i) con respecto a la inicial (MF_{inicial} – MF_{inicial})/MF_{inicial} (5).

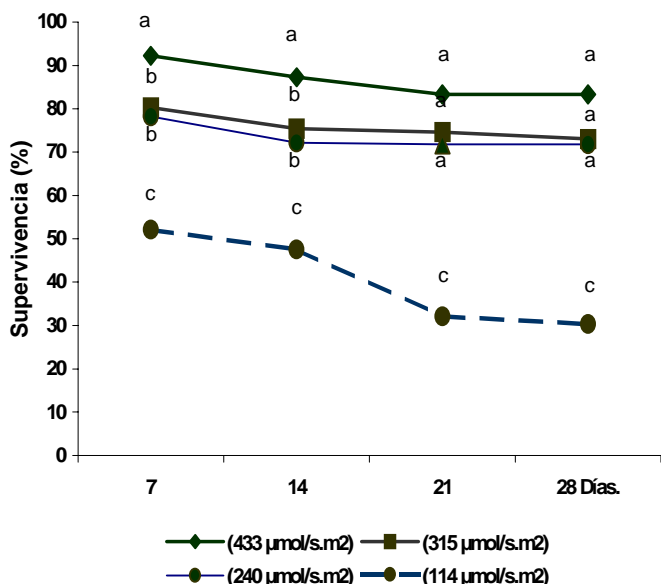
Para el análisis de la densidad estomática se aplicó esmalte de uñas a la parte central del envés de la hoja. Pasados 15 minutos, se extrajo el esmalte y se evaluó según la fórmula # estomas/mm² = # estomas contados en el campo/área observada.

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado, donde se consideró a cada planta como una unidad experimental. En el caso de las variables densidad estomática y contenido de clorofilas, se utilizaron 10 vitroplantas en cada momento de evaluación; en las demás variables se emplearon 40 vitroplantas para los análisis correspondientes.

Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de clasificación simple y las medias se compararon según las pruebas de rangos múltiples de Duncan. Para las variables representadas en figuras se calculó el intervalo de confianza de las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se aprecian los efectos de la luz sobre la supervivencia de las vitroplantas de caña de azúcar. Las intensidades de luz tienen sus principales efectos sobre la supervivencia en las dos primeras semanas, ya que posterior a esa fecha el comportamiento es muy estable, diferente sólo en el tratamiento de más baja intensidad lumínica, donde la estabilidad se alcanza luego de la tercera semana, presentando diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos en todos los momentos evaluados. El elemento más importante de estos resultados es la necesidad de trabajar con DFFF superiores a 240 $\mu\text{mol/s.m}^2$ en los primeros estadios para alcanzar buenos porcentajes de supervivencia.



Los tratamientos con letras diferentes indican significación para $p < 0.05$ en los distintos momentos de evaluación ($n=40$)

Figura 1. Efectos de DFFF sobre la supervivencia de plántulas de caña de azúcar durante la aclimatización

La luz ejerce un efecto importante en la supervivencia de las plántulas; este es uno de los factores que se deben manejar con cuidado en los primeros momentos de permanencia de las plántulas en las condiciones *ex vitro*. Cuando la luz no es correctamente manejada y las plántulas son sometidas a altas intensidades de iluminación, aparecen síntomas de fotoinhibición del aparato fotosintético y la fotodegradación de las clorofilas.

La caña de azúcar es un cultivo que demanda altas intensidades lumínicas para ejercer plenamente su capacidad fotosintética; los bajos valores de supervivencia alcanzados por las plántulas que fueron sometidas a intensidades lumínicas menores, demuestran la necesidad de un adecuado manejo en este cultivo.

Para incrementar la supervivencia de las plántulas en la fase de aclimatización, el ambiente (luz, humedad relativa, temperatura, etc) debe ser manipulado de forma tal que, al comienzo de la aclimatización, se simulen las condiciones en las que se cultivaron las plantas *in vitro*; luego de ello, se realizará un tránsito gradual hasta que en la etapa final del proceso, el ambiente sea lo más semejante posible al encontrado en condiciones de campo, lo que evita el daño o la muerte de las plantas una vez que son transferidas fuera de las casas de cultivo. Cuando la planta sobrevive, depende del manejo que a ella se le realice en el área de aclimatización su mejor crecimiento y desarrollo como se puede observar en la Tabla I.

Tabla I. Efectos de los diferentes manejos sobre el incremento en masa fresca (g) y el número de hojas fotosintéticamente activas e hijos

	Δ Masa fresca (g)	Número hojas fotos activas	Número hijos
Túnel + Cantero (1)	5.99 b	4.50 c	0.25 c
Túnel + Exteriores (2)	7.42 a	6.06 a	0.49 b
Cantero (3)	6.54 b	5.24 ab	0.28 c
Cantero + Exteriores (4)	8.18 a	5.81 a	0.76 a
ES X (\pm)	0.41	0.29	0.10

HR; DFFF= 1- 95;325 + 90;450 2- 95;325 + 80;4000

3- 90;450 4- 90;450 + 0;4000

Los tratamientos con letras diferentes indican significación para $p < 0.05$. Cada dato representa la media para $n=40$.

La influencia de los ambientes exteriores es más marcada que el resto de las variables experimentales, ya que su combinación tanto con los túneles como con los canteros siempre fue significativamente superior. El manejo de plantas comenzando por los canteros y finalizando en exteriores resultó la mejor combinación para estimular el más rápido crecimiento y desarrollo de las plántulas. De modo que la luz debe ser menos intensa sólo en los primeros días, al considerar la baja actividad metabólica que se realiza (6). Sin embargo, una vez lograda la adaptación y capacidad para desarrollar procesos fotosintéticos, la exposición a la luz completa en exteriores es un factor favorable para incrementar las tasas de crecimiento y desarrollo de estas plántulas.

Este es un aspecto importante para acelerar el tránsito de las plantas por el área de aclimatización, para que una vez lograda la supervivencia, éstas crezcan y se desarrollen rápidamente, para hacer eficiente el proceso de propagación y utilizar con mayor frecuencia las instalaciones especializadas dedicadas a estos fines.

La caña de azúcar es un cultivo que demanda altas intensidades lumínicas para ejercer plenamente su capacidad fotosintética; los bajos valores de supervivencia alcanzados por las plántulas que fueron sometidas a intensidades lumínicas menores demuestran la necesidad de un adecuado manejo en este cultivo. En condiciones de saturación de luz, por lo general, la fotosíntesis de la caña de azúcar y otras plantas C-4 es de dos a cuatro veces mayor que la de las plantas C-3. En cuanto a la relación fotosíntesis/respiración, como un elemento importante en la acumulación de biomasa en la planta, también existen diferencias entre las especies C-3 y C-4 en los gastos respiratorios de los fotosintatos asimilados. En particular, la caña de azúcar presentó una elevada fijación de CO_2 asociada a una menor actividad respiratoria.

El comportamiento de la tasa de crecimiento de las plántulas provenientes de SIT durante la aclimatización se observa en la Figura 2. A los 21 días se realizó un cambio de las condiciones de aclimatización y se aprecia un mayor crecimiento y desarrollo de las plántulas en este período luego de adaptarse a las nuevas condiciones, cambio que se aprecia significativamente marcado sobre todo luego de la segunda semana de permanencia de las plántulas en las condiciones exteriores.

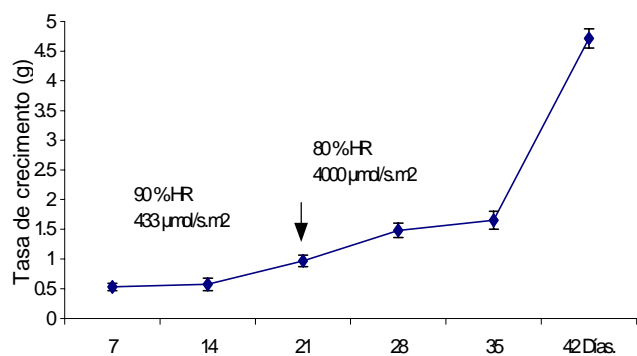


Figura 2. Tasa de crecimiento de las plántulas durante la fase de aclimatación

Es conocido que las hojas producidas en condiciones *in vitro* son empleadas como almacén de sustancias carbonadas, las que son utilizadas en el crecimiento y desarrollo de las plántulas, luego de ser transferidas de las condiciones *in vitro* a *ex vitro* y mantienen esta función hasta tanto no exista una nueva emisión foliar (6, 7, 8).

En un estudio comparativo entre dos grupos de plantas, se encontró que las hojas producidas *in vitro* en *Calathea* actúan como almacén de sustancia en los primeros momentos de transferidas a condiciones *ex vitro* (9) y sólo las nuevas hojas emitidas en condiciones *ex vitro* son autotróficas, a diferencia de las hojas de *Spathiphyllum*, que en condiciones *in vitro* son fotosintéticamente competentes, lo que hace suponer que no es una regla común para todas las plantas.

Se sugiere que durante la ontogenia de las hojas en plantas dicotiledóneas (10), se enmarcan dos fases fotosintéticas distintivas: la primera con incrementos de los rangos fotosintéticos, la cual está muy relacionada con la expansión foliar y una segunda fase de senescencia o declinación de los rangos fotosintéticos; entre ambas fases ocurre un máximo de fotosíntesis.

Se encontró un incremento en las masas fresca y seca en plántulas de *Mentha rotundifolia* (11) cuando fueron expuestas a prolongadas etapas de fotoperíodo e intensidad lumínica en condiciones *in vitro*; estas plántulas alcanzaron mayores niveles fotosintéticos y lograron altos porcentajes de supervivencia cuando fueron trasladadas a condiciones de aclimatación.

Durante la fase de aclimatación en caña de azúcar se pueden establecer dos marcadas etapas: un período de lento crecimiento con baja formación de raíces y números de hojas, en el cual las plántulas realizan sus funciones a expensas de las reservas adquiridas en la fase *in vitro*; la otra etapa está caracterizada por un crecimiento rápido, asociado a una nueva emisión del sistema radical y a la formación de hojas con características normales. Similares resultados fueron alcanzados en *Gerbera jasmenioni* (12) y también en *Spathiphyllum* se encontró un incremento en los niveles de almidón, fructosas y glucosa, así como en la actividad enzimática de las invertasas ácidas en los primeros seis días de permanencia de las plántulas en la fase de aclimatación. Cuando aparecen las nuevas raíces y hojas en las plántulas, no se observan incrementos de estos compuestos, lo que indica que existe una movilización de dichos compuestos durante esta etapa y comienza a declinar la actividad enzimática, según transcurre el tiempo de permanencia de las plántulas en la fase de aclimatación.

En la Tabla II se pueden observar algunas variables de crecimiento y desarrollo de las plántulas evaluadas durante la aclimatación.

Algunas de las variables evaluadas presentan una tendencia similar a los resultados obtenidos en la tasa de crecimiento (Figura 2), donde se aprecia un ligero aumento en los primeros 21 días. Luego de esta fecha se realizan cambios en las condiciones de aclimatación que provocan en la mayoría de las variables una disminución. Posterior a la adaptación de las plántulas a las nuevas condiciones ambientales, se aprecia un marcado incremento fundamentalmente en las masas fresca y seca.

Muchos cultivos en condiciones *in vitro* presentan pocos e infuncionales estomas, que se deben a las condiciones ambientales a que están sometidos. Se ha demostrado que un aumento en la duración e intensidad lumínica en el período *in vitro*, causa un incremento en la densidad estomática en plántulas de café, además de elevar su funcionalidad (13). En la evaluación de esta variable en caña de azúcar, se observó un notable incremento en los primeros momentos (21 días), siendo bastante estable posterior a esta etapa.

Tabla II. Comportamiento del crecimiento y desarrollo de plántulas de caña de azúcar durante la aclimatación

	DFFF = 433 $\mu\text{mol/s.m}^2$ y 90 % HR				DFFF = 4 000 $\mu\text{mol/s.m}^2$ y 80 % HR		
	0	7	14	21	28	35	42 días
Masa fresca (g)	0.35±0.06	0.54±0.059	1.04±0.10	4.87±0.095	4.43±0.12	6.68±0.15	8.53±0.16
Masa seca (g)	0.04±0.036	0.04±0.003	0.15±0.026	0.17±0.020	0.14±0.028	0.14±0.022	0.79±0.041
Número raíces	7.02±0.40	7.28±1.020	10.39±1.05	12.50±0.79	9.27±0.33	11.30±0.36	12.90±0.39
Número hojas	3.80± 0.1	2.90± 0.19	3.10± 0.23	3.40± 0.24	2.80± 0.19	3.80± 0.13	4.10± 0.10
Área foliar	5.23±0.9	5.18±1.30	11.50±0.40	22.05±2.8	189.08±11.1	243.05±9.0	297.03±7.7
Clorofilas totales ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$)	19.30±1.2	18.20±1.18	17.30±0.95	16.40±0.76	12.70±0.63	9.60±0.59	8.20±0.54
Densidad estomática	12.7±0.86	22.5±1.82	65.6±2.48	103±3.1	121.4±2.7	124.10±2.9	126.8±3.0

Los datos representan la media \pm ES

Otro aspecto a resaltar es el comportamiento de las clorofilas durante el tiempo de permanencia de las plántulas en aclimatización. Se puede observar una disminución del contenido de clorofilas totales durante el período evaluado, quizás motivado por la fotodegradación de estas. No obstante, se observa un incremento en las variables de crecimiento que puede estar motivado por la mayor eficiencia de las clorofilas en esos momentos. Similares resultados fueron obtenidos en plántulas de palma de aceite (14).

En diferentes cultivos el contenido de clorofilas es variable y depende de la intensidad lumínica; de forma general, el contenido es mayor a baja intensidad que a alta (15). En un estudio sobre el efecto de la intensidad lumínica en la aclimatización de *Calathea*, se encontró una relación inversa entre la intensidad lumínica y el contenido total de clorofilas (16).

Por otra parte, se ha observado una sustancial fluorescencia de larga duración en hojas de *Clematis*, típica de la separación de la clorofila de los centros de reacción (17). Por ello, se sugiere que esta desorganización de los pigmentos asimiladores de energía, puede ser responsable de la baja capacidad fotosintética de las hojas desarrolladas *in vitro*. Es probable que un cambio en la actividad fotosintética durante la ontogenia de las plantas *in vitro*, esté correlacionado con el acoplamiento de los pigmentos a los centros de reacción.

En general, las plántulas *in vitro* presentan un contenido total de clorofilas comparable al de las plantas cultivadas en condiciones *ex vitro* en similares condiciones de luz (18); no obstante, por la infuncionabilidad de estas *in vitro*, motivada por las condiciones imperantes, hacen que sólo un número reducido ejerzan su función biológica cuando son removidas de estas condiciones. Se ha demostrado que sobre la base del área foliar, el contenido de clorofila es mayor a bajas que a altas intensidades de luz.

Se conoce por diferentes autores (8, 19, 20) que en las plántulas provenientes de bajas intensidades, cuando son colocadas a intensidades lumínicas altas, se produce la fotodegradación de las clorofilas. Se ha encontrado una disminución de los almidones almacenados en los cloroplastos, según disminuía la intensidad fotosintética de las plántulas (21). Similares resultados fueron alcanzados por otros autores (22), quienes describieron una disminución del contenido de clorofila de 3.3 hasta 0.2 mg.g⁻¹ masa fresca, durante los primeros 21 días en la fase de aclimatización en plántulas de fresa.

Los resultados ratifican la importancia del manejo adecuado de los factores ambientales sobre las dinámicas del crecimiento y desarrollo de las plántulas, para lograr el incremento permanente de los primeros y el rápido tránsito de las últimas por las instalaciones destinadas a la aclimatización, con altos porcentajes de supervivencia y la calidad requerida para la comercialización.

Es obvio que la calidad estructural y funcional alcanzada por las plántulas de caña de azúcar durante la aclimatización posibilitan una actividad metabólica su-

perior; en particular, la actividad fotosintética presumiblemente garantizada por la exposición a la luz solar y relacionada con el funcionamiento estomático y el incremento del área foliar, hace que las tasas de crecimiento de las plántulas sean menos dependientes de actividades agrotécnicas en esta fase.

REFERENCIAS

1. Preece, J. E. y Sutter, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. En *Micropropagation*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. 1991.
2. Castillo, R., *et al.* Establecimiento de suspensiones celulares embriogénicas en variedades comerciales de caña de azúcar. *Centro Agrícola*, 1994, vol. 2, p. 62-74.
3. Lorenzo, J. C., *et al.* Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, vol. 54, no. 3, p. 197-200.
4. Porras, R. J. Chlorophylls. En H. Schier, ed. CRC Press Inc. 1991.
5. Ziv, M. The use of growth retardants for the regulation and acclimatization of *in vitro* plants. En *Progress in Plant Growth Regulation*. Netherlands Kluwer Academic Publisher, 1992, p. 809-817.
6. Van Huylenbroeck J. M. y Debergh, P. C. Acclimatization micropropagated *Gerbera jamosii*. Use of chlorophyll in florescence. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 57/4^a, 1992.
7. Desjardins, Y., Gosselin, A. y Yelle, S. Acclimatization of *ex vitro* strawberry plantlets in CO₂-enriched environments and supplementary lighting. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1987, vol. 112, no. 5, p. 846-851.
8. Debergh, P. C. Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. *Acta Horticulturae*, 1991, vol. 280, p. 291-300.
9. Van Huylenbroeck, J. M., Piqueras, A. y Debergh, P. C. Photosynthesis and carbon metabolism in leaves formed prior and during *ex vitro* acclimatization of micropropagated plants. *Plant Science*, 1998, vol. 134, p. 21-30.
10. Miller, A., *et al.* Elevated CO₂ effects during leaf ontogeny. A new perspective on acclimatization. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 115, p. 1195-1200.
11. Jeong, B. R. Stem elongation and growth of *Mentha rotundifolia in vitro* as influenced by photoperiod, photon flux, and difference between day and night temperatures. *Acta Horticulturae*, 1996, vol. 440, p. 539-544.
12. Van Huylenbroeck, J. M. y De Riek, J. Sugar and starch metabolism during *ex vitro* rooting and acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum "Pepite"* plantlets. *Plant Science*, 1995, vol. 111, p. 9-25.
13. Ross-Karstens, G. S., Ebert, G. y Ludders, P. Influence of *in vitro* growth conditions on stomatal density, index and aperture of grape, coffee and banana plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 1998, vol. 4, no. 1, p. 21-27.
14. Rival, A., *et al.* Growth and carboxylase activities in *in vitro* micropropagation oil palm plantlets during acclimatization: comparison with conventionally germinated seedlings. *Adv. Hort. Sci.*, 1998, vol. 12, p. 111-117.
15. Pospíšilová, J., Catsky, J. y Šesták, Z. Photosynthesis in plants cultivated *in vitro*. En *Handbook of photosynthesis*, 1997, p. 525-540.

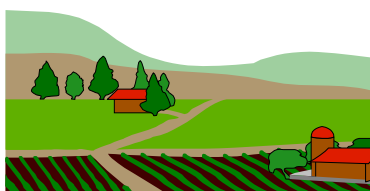
16. Van Huylbroeck, J. M., Piqueras, A. y Debergh, P. C. Effects of light intensity on photosynthesis and toxic O₂ scavenging enzyme during acclimatization of micropropagated Calathea. *Free Radicals*, 1997, vol. 37, p. 283-290.
17. Lees, R. P., Evans, E. H. y Brown, R. G. A study of the chlorophyll fluorescence from mature and micropropagated Clematis by time-resolved spectroscopy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 1991, vol. 8, p. 307-313.
18. Donnelly, D. J., Vidaver, W. E. y Lee, K. The anatomy of tissue cultured red raspberry prior to and after transfer to soil. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1998, vol. 4, p. 43-50.
19. Desjardins, Y. Photosynthesis *in vitro* on the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems. *Acta Horticulturae*, 1995, vol. 393, p. 345-353.
20. Ziv, M. *In vitro* acclimatization. En *Automatization and environmental control in plant tissue culture*. Netherlands Kluwer Academic Publisher, 1995, vol. 20, p. 493-516.
21. Capellades, M., Lemeur, R. y Debergh, P. C. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in Rosa cultured *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Orga. Cult.*, 1991, vol. 25, p. 21-26.
22. Grout, B. W. y Millam, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. *Annals Bot.*, 1985, vol. 55, p. 129-131.

Recibido: 29 de octubre de 1999

Aceptado: 24 de marzo del 2000

CURSO DE VERANO 2000

BRASINOSTEROIDES: NUEVOS BIORREGULADORES DE AMPLIA PERSPECTIVA PARA LA AGRICULTURA



Coordinador: Dra.C. Miriam de la C. Núñez Vázquez
Fecha: 2 al 6 de agosto
Duración: 30 horas
Matrícula: 250 USD

Para más información diríjase a:

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias
Agrícolas(INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba CP 32700
Telf: (53)(64) 6-3867, 6-3773
Fax: (53)(64) 6-3867
e-mail: posgrado@inca.edu.cu