



Siempre junto
al Productor



Semilla biotecnológica de caña de azúcar (*Saccharum* spp) (organogénesis y embriogénesis somática)



Dr. Rafael Gómez Kosky
ETICA Centro Villa Clara
INICA. Cuba
rafael.kosky@inicavc.azcuba.cu



4-6 diciembre de 2017. Universidad de Costa Rica

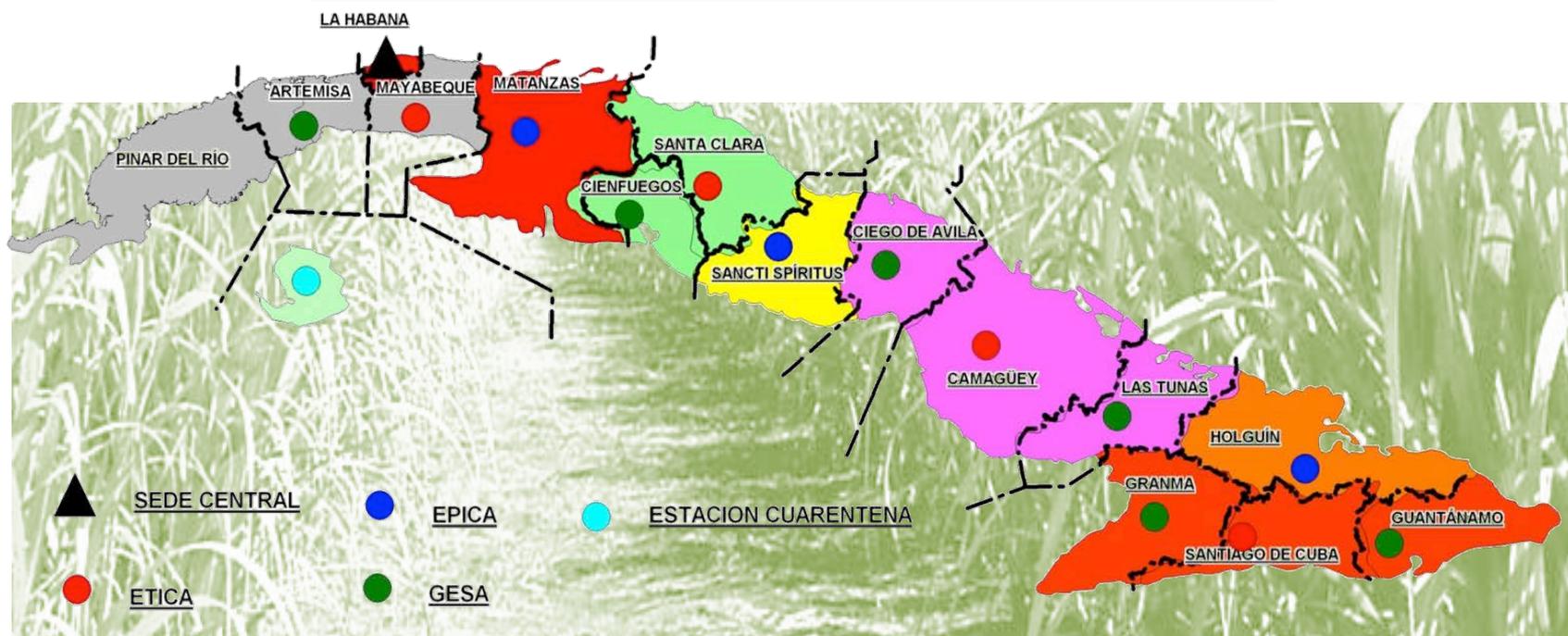
INVESTIGACIONES DE CAÑA DE AZÚCAR



1964 - (INICA)



Red Experimental del INICA



POTENCIAL CIENTIFICO DEL INICA

Universitarios: 371

Vinculados a la Investigación: 169

Categoría Científica: 157

Doctores en Ciencias: 51

Doctores en Ciencias formados por el INICA: 82

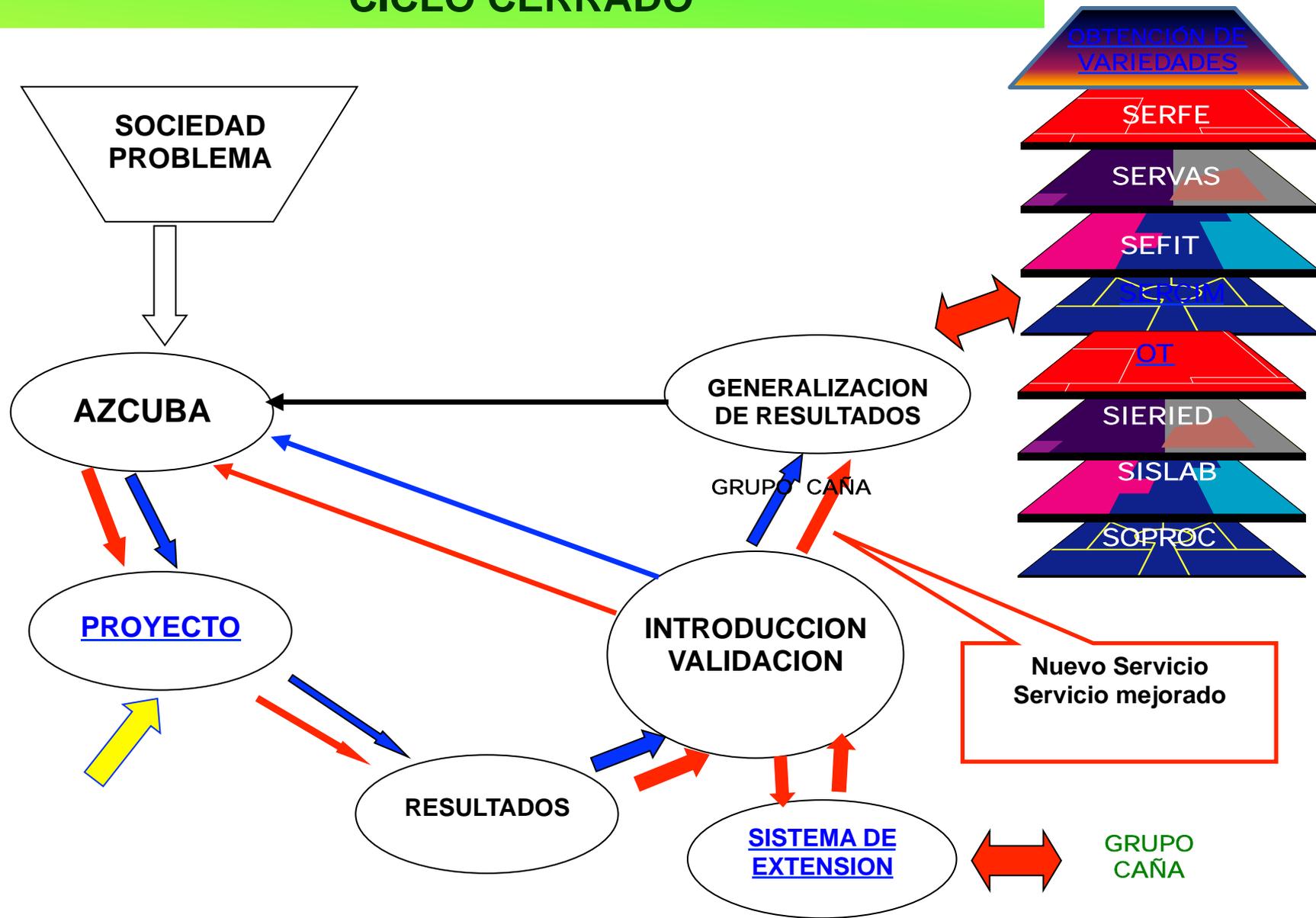
Máster en Ciencias: 115

Máster en formación: 55

Reserva Científica: 4



Sistema de Investigación y Asistencia al Productor CICLO CERRADO



PROYECTOS DE INVESTIGACION

Total de Proyectos de Investigación 35

- **Genética, Obtención de variedades y Biotecnología 9**
- **Fitosanidad y protección de plantas 8**
- **Medio ambiente, suelo y agua 13**
- **Informática, modelación, patrimonio institucional y agricultura de precisión 5**

DEPARTAMENTOS DE GENÉTICA PROTECCIÓN DE PLANTAS

Obtener cultivares de alto rendimiento cañero, adaptados a las principales condiciones edafoclimáticas del país, resistentes a las principales plagas y enfermedades y aptas para la diversificación.

Vías para la obtención de nuevo cultivares

BIOTECNOLOGIA

HIBRIDACIÓN

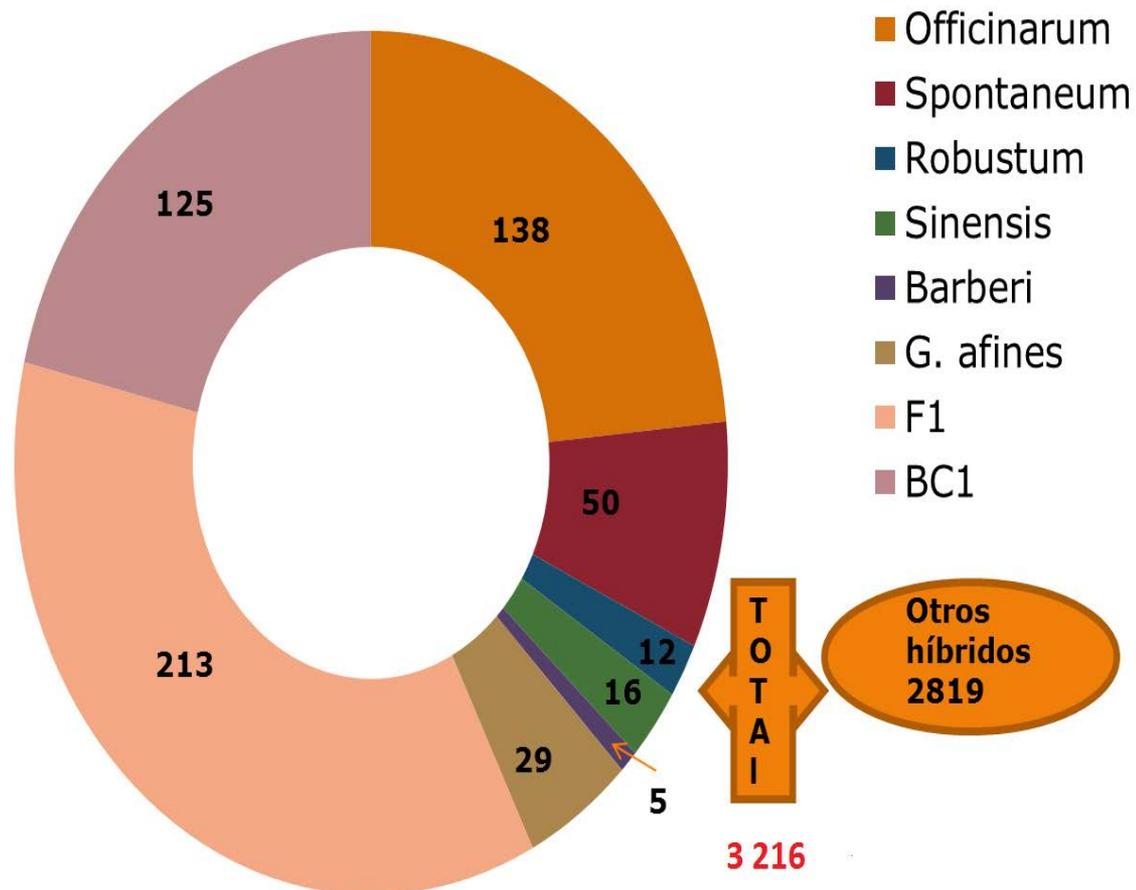
CULTIVARES
EXTRANJEROS



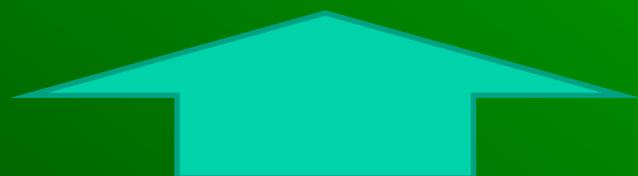
Colección de Germoplasma: Número de accesiones - variedades - cultivares

País	Individuos
Brasil	3 626
India	3 340
Cuba	3 216
México	3 181
Australia	3 000
Barbados	2 650
E.U, Florida	2 500
Guatemala	2 265
Sud África	1 797
Colombia	1 273
Reunión	1 200

Composición de los Recursos Fitogenéticos de la caña de azúcar en Cuba.



Número de cruzas por año



**CUBA 600 a 700
CRUCES ANUALES.
175 000 Posturas**

País	Número de cruzas por año
Australia	1500
Barbados	797
Brasil	1477
Colombia	200
India	583
Reunión	927
Sud África	1300
E.E.U.U. Florida	1400
Guatemala	600



Servicio de Recomendaciones de Variedades y Semillas

Es un servicio científico-técnico destinado a perfeccionar la utilización de los cultivares de caña.

Agrupar un conjunto de actividades (observaciones de campo, creación de bases de datos, registros históricos, desarrollo y utilización de sistemas de cómputo) destinadas a recomendar el manejo óptimo y correcta ubicación de grupos de cultivares.



**Uso de cultivares para
producción de energía y
como alimento animal.**



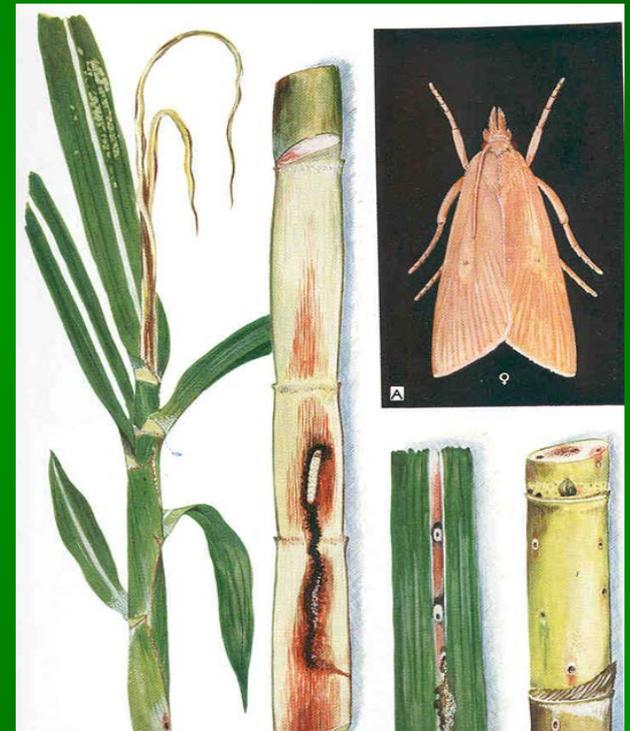
Uso de la Caña Energética





Servicio Fitosanitario a la Producción Cañera

**Constituye el eslabón
fundamental del sistema de
protección fitosanitaria a la caña
de azúcar en Cuba y potencia las
estrategias para la introducción
y extensión de nuevos
resultados.**



DEPARTAMENTOS DE SUELOS, AGRONOMIA Y TECNOLOGÍA



Misión: Desarrollar tecnologías agrícolas para la producción en caña de azúcar y la transferencia tecnológica en las áreas de suelo y fertilidad, ordenamiento territorial, fitotecnia que incluye el riego, drenaje, mecanización, y tecnologías de avanzada, que permitan el incremento de las producciones y la reducción de los costos.



THE MORROW PLOTS

AMERICA'S OLDEST EXPERIMENTAL FIELD

ESTABLISHED IN 1876

AMERICA'S FIRST EXPERIMENT ON THE
SUSTAINABILITY OF CROPPING SYSTEMS
AND FERTILIZATION PRACTICES.

TOTAL DE EXPERIMENTOS DE LD EN EL MUNDO **620**

Red de Experimentos de Larga Duración en Caña de Azúcar en Cuba

Experimentos	Provincias	Edad (años)	Cosechas
26 (4,19%)	7	43 - 28	622

N, P y K

(Matanzas; Villa Clara; Sancti Spiritus; Camagüey; Las Tunas; Holguín y Santiago de Cuba)



Servicio de Recomendaciones de Fertilizantes y Enmiendas

Es uno de los eslabones fundamentales del Servicio Agroquímico. Tiene la responsabilidad de recomendar cuánto, cómo y dónde fertilizar, establece los criterios y fundamentos del uso de los productos y agrupa el conjunto de actividades básicas que conducen a la dosificación, los sistemas de cómputo, bases de datos y registros históricos.





Servicio de Control Integral de Malezas

Es un servicio de control, planificación, capacitación y asesoramiento a los productores sobre el control de malezas en caña de azúcar.





Sistema de Extensión Agrícola

Es el proceso mediante el cual los resultados de la ciencia y la técnica son llevados al productor, además de corregir las deficiencias tecnológicas que por diferentes causas están presentes en el proceso productivo del cultivo de la caña de azúcar.

Esferas de la Extensión Agrícola

- Innovación tecnológica
- Transferencia tecnológica
- Asistencia científico-técnica
- Servicios Científico-Técnicos
- Capacitación
- Divulgación





ETICA CENTRO VILLA CLARA

5 de septiembre de 1984 (ETICA)



**BLOQUE
EXPERIMENTAL
SAGUA**

**BLOQUE
EXPERIMENTAL
RANCHUELO**

**BLOQUE
EXPERIMENTAL
ESPARTACO**

**GESA
CIENFUEGOS**

Parcelas demostrativas, bancos de semilla, experimentos, pruebas de productos, laboratorios para química, física y microbiología del suelo, tejido vegetal, análisis de azucarería y otros especiales y de agua.





_Centro Nacional de Referencia de Suelos, con 23 monolitos que representan los suelos más explotados para caña de azúcar en el país.

Muestras de suelos tomadas por los Drs. Bennett y Allison en el período comprendido entre 1924 – 1926

_Única Biofábrica de caña de azúcar de AZCUBA

_Centro Nacional de Documentación e Información Científico Técnica del INICA



Museo de Historia Natural

Rescate de los
principales
levantamientos de
suelos del país



*Bennett y Allison
(1926-1928)*





BIOFÁBRICA

La Biofábrica cuenta con un capital humano calificado y con un moderno equipamiento con capacidad multidisciplinaria para crear, desarrollar y comercializar plantas *in vitro*, tecnologías, productos y servicios especializados dirigidos a la producción agrícola en todo el país y en el extranjero.





INICA

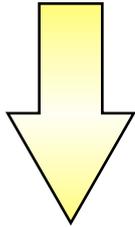
Siempre junto
al Productor

MEJORAS BIOTECNOLÓGICAS EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

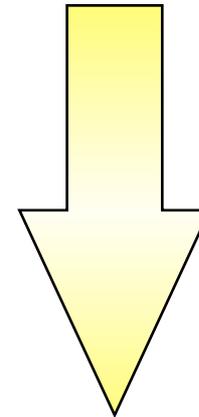


BIOFÁBRICA

Instalaciones creadas para la producción de plantas mediante las tecnologías de propagación *in vitro*



CONCEPCIÓN DE TRABAJO

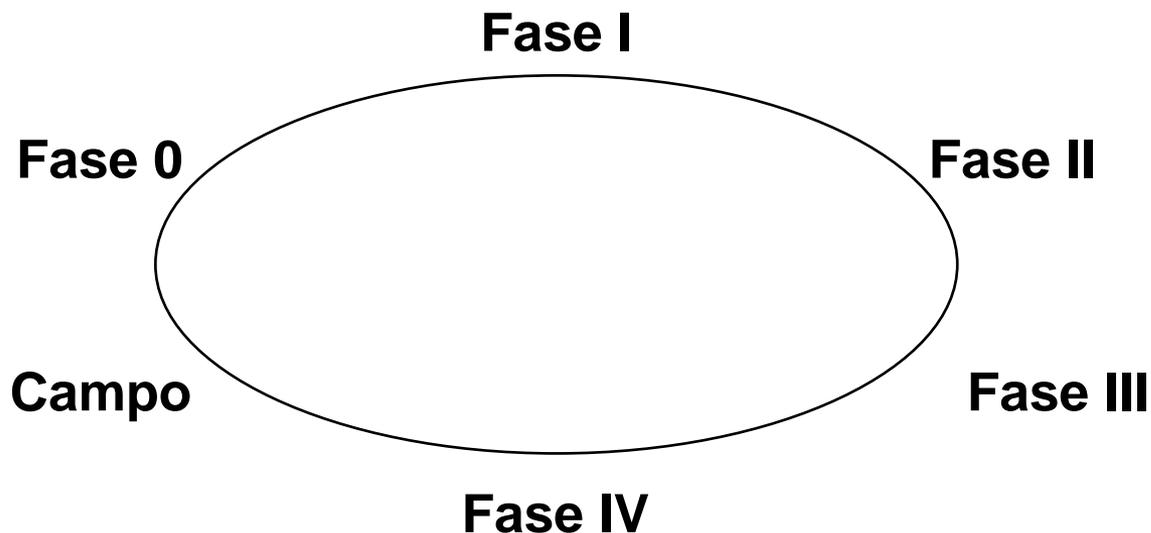


**DISEÑO ARQUITECTÓNICO Y
DISTRIBUCIÓN DE LAS ÁREAS**

CONCEPCIÓN DE TRABAJO

Abarca el ciclo completo del productor de semillas, desde la fase de laboratorio, hasta el trasplante de las plantas *in vitro* al campo

Fuertes vínculos entre la producción y la investigación



- Como función propia
- Vínculos con centros de I+D



INICA

*Siempre junto
al Productor*

VENTAJAS DE LA MICROPROPAGACIÓN

Mayor rapidez en la introducción de nuevas especies vegetales.

- ✓ Selección individual de plantas élites.
- ✓ Altos coeficientes de propagación.
- ✓ Uniformidad en las plantas producidas.
- ✓ Elevadas producciones en espacios reducidos.

Mayor calidad del material vegetal.

- ✓ Plantas libres de enfermedades.
- ✓ Mejoramiento del fenotipo de las plantas.

Mayor facilidad en la comercialización.

- ✓ Flexibilidad en la comercialización.
- ✓ Facilidad en la transportación.
- ✓ Producción durante todo el año.



INICA

*Siempre junto
al Productor*

Fase 0



Fase I



Fase II



Fase III



Fase IV



Campo





INICA

*Siempre junto
al Productor*

Multiplicación en Biorreactores de Inmersión Temporal







INICA

Siempre junto
al Productor

Comercialización de plantas *in vitro* hasta el campo





INICA

*Siempre junto
al Productor*

□ Incremento de la supervivencia y el crecimiento en la fase de aclimatización *ex vitro* de la biofábrica (Umbráculo).

Empleo de sustancias con efecto anti-estrés

FitoMas-E® (ICIDCA, Cuba)



VIUSID Agro® (Catalysis, España)





INICA

*Siempre junto
al Productor*

Fase de Aclimatización *ex vitro*



Cultivar C90-469

Tratamientos

Producto	Disolución (mL L ⁻¹)	Frecuencia de aplicación
VIUSID agro [®]	0	
VIUSID agro [®]	0.5	Primeros 3 días (dos veces al día)
VIUSID agro [®]	0.8	A partir de los 7 días una vez por semana hasta los 45 días
Fitomas E [®]	0	
Fitomas E [®]	0.5	Primeros 3 días (dos veces al día)
Fitomas E [®]	0.8	A partir de los 7 días una vez por semana hasta los 45 días

Diseño experimental

El diseño experimental empleado fue completamente aleatorizado. Por tratamiento se emplearon un total de 180 plantas *in vitro*. En tres bandejas de 60 alvéolos cada una con un volumen por alvéolo de 76 cm³ de sustrato, compuesto por una mezcla de compost a partir de cachaza de la caña de azúcar, al que se le añadió zeolita en proporción de 3:1 (v/v).

En la época seca se utilizaron plantas *in vitro* con una altura mayor a 3 cm y en la época de lluvia se utilizaron dos grupos de plantas ≤ 3 cm y > 3 cm.

Condiciones de cultivo

Las bandejas fueron colocadas en condiciones de umbráculo, cubierto con una malla sombra de color negro (Sarán) que permitió la reducción al 50% de la intensidad luminosa y una frecuencia de riego con microaspersores de dos veces al día durante 5 minutos. La humedad relativa del 70-85% y temperaturas de $25\pm 2^\circ\text{C}$ en época de seca y $32\pm 2^\circ\text{C}$ en época de lluvia.



Evaluaciones

A los 15 días supervivencia (%)

A los 21 días ahijamiento (número de nuevos brotes por planta)

A los 45 y 60 días en época de seca y a los 60 días época de lluvia después del trasplante se evaluaron a 30 plantas seleccionadas al azar las siguientes variables:

- altura de la planta (cm),
- diámetro del tallo (mm),
- número de hojas,
- longitud de la hoja +1,
- contenido de clorofilas totales (unidades SPAD) hoja +1 equivalentes a la cantidad de clorofila y nitrógeno total determinados por métodos tradicionales (Reeves *et al.*, 1993) empleando el detector portátil de clorofila SPAD-502 (Minolta, Japón).
- masa fresca (MF) de la planta completa (gMF),
- masa seca (MS) de la planta completa (gMS);
- MF parte área,
- MF de las raíces,
- número total de raíces
- longitud de la raíz más larga (cm).

Efecto de los bioestimulantes VIUSID agro y FitoMas-E sobre la supervivencia de las plantas *in vitro* a los 15 días después del trasplante en condiciones de aclimatización *ex vitro*.

EPOCA DE SECA

Tratamientos Disolución (mL L ⁻¹)	Supervivencia (%) plantas >3 cm
FitoMas-E 0.5	97.2 a
FitoMas-E 0.8	93.3 b
VIUSID 0.5	99.4 a
VIUSID 0.8	100 a
Control	78.3 c

EPOCA DE LLUVIA

Tratamientos Disolución (mL L ⁻¹)	Supervivencia (%) plantas >3 cm	Supervivencia (%) plantas <3 cm
FitoMas-E 0.5	87,5 b	85,5 a
FitoMas-E 0.8	93,3 b	83,3 a
VIUSID 0.5	97,7 a	86,7 a
VIUSID 0.8	86,1 b	84,5 a
Control	76,6 c	66,1 b

Porcentajes con letras distintas en una misma columna difieren significativamente según la prueba de Proporciones para $p < 0.05$



Figura 1. Supervivencia de plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 en condiciones de aclimatización *ex vitro* a los 15 días después del trasplante. **Época seca.** (A) Control (B) VIUSID agro 0.5 mL L⁻¹ (C) VIUSID agro 0.8 mL L⁻¹

BIOESTIMULANTES

- FITOMAS-E 0.8 mL L⁻¹



- Control



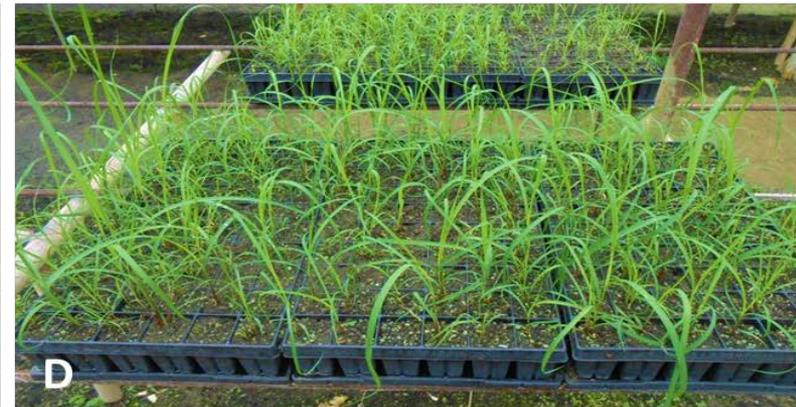


Figura 2. Supervivencia de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 menores de 3 cm, en condiciones de aclimatización *ex vitro* a los 15 días después del trasplante. Época Lluvia. (A) Control (B) FitoMas-E 0.5 mL L⁻¹ (C) FitoMas-E 0.8 mL L⁻¹ (D) VIUSID agro 0.5 mL L⁻¹ (E) VIUSID agro 0.8 mL L⁻¹



Figura 3. Supervivencia de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 **mayores de 3 cm**, en condiciones de aclimatización *ex vitro* a los 15 días después del trasplante. **Época lluvia**. (A) Control (B) FitoMas-E 0.5 mL L⁻¹ (C) FitoMas-E 0.8 mL L⁻¹ (D) VIUSID agro 0.5 mL L⁻¹ (E) VIUSID agro 0.8 mL L⁻¹

Efecto del uso del FitoMas-E y el VIUSID agro en el ahijamiento de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C90-469) a los 30 días de cultivo en condiciones *ex vitro*. Época de seca

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Total de plantas obtenidas	Coefficiente de multiplicación
FitoMas-E 0.5	110	0.63 c
FitoMas-E 0.8	149	0.88 c
VIUSID 0.5	287	1.60 b
VIUSID 0.8	374	2.07 a
Control	96	1.43 b
MG±EE		1.32±0.12

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$
n=180



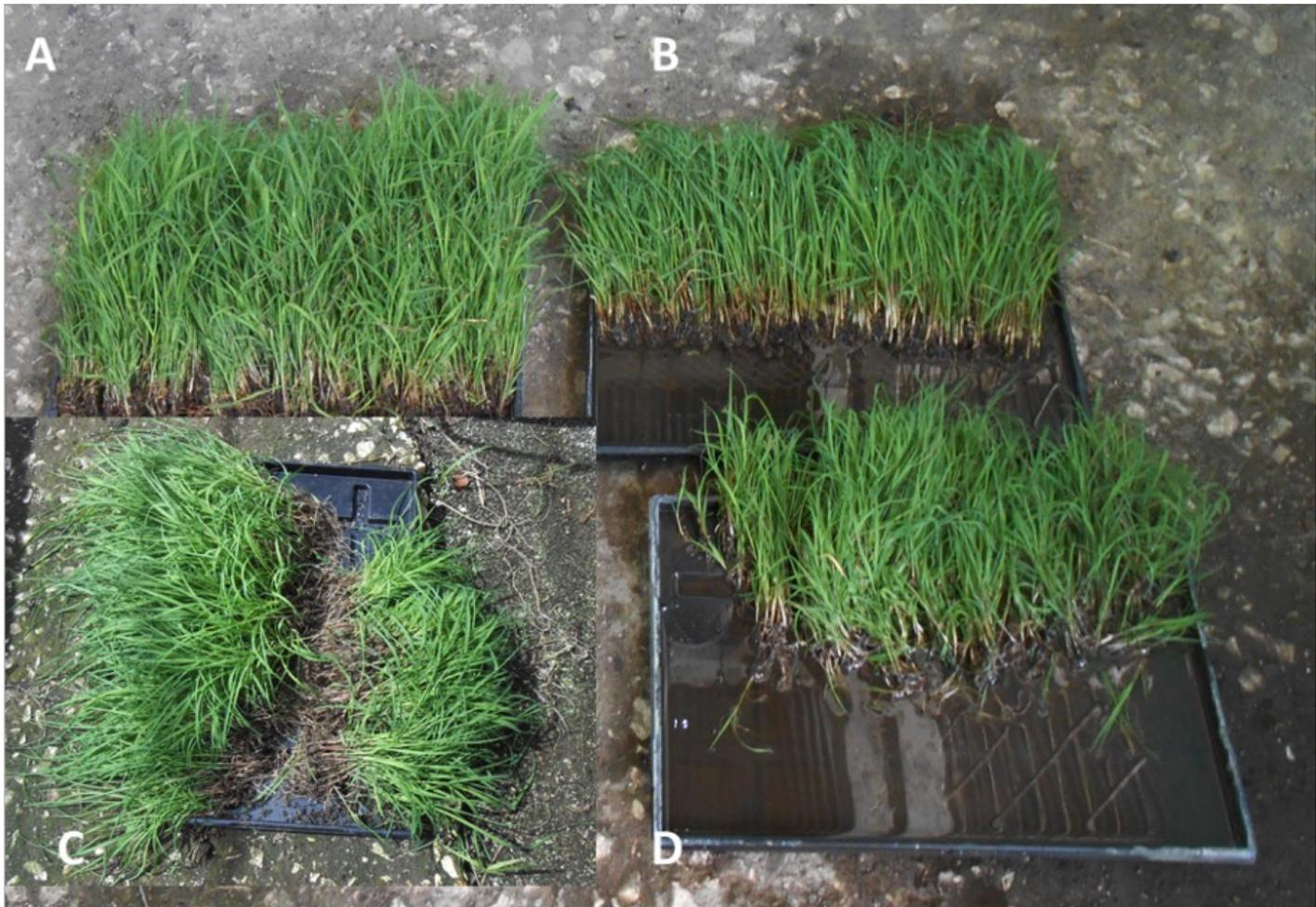


Figura 4. Ahijamiento obtenido de plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 en condiciones de aclimatización *ex vitro* a los 21 días después del transplante. Época seca. (A) VIUSID Agro 0.5 mL L⁻¹ (B) FitoMas-E 0.8 mL L⁻¹ (C) Control (D) VIUSID Agro 0.8 mL L⁻¹

Efecto del uso del FitoMas-E y el VIUSID agro en el ahijamiento de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C90-469) a los 21 días de cultivo en condiciones *ex vitro*. Época de lluvia

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Total de plantas obtenidas	Coefficiente de multiplicación
FitoMas-E 0.5	196	1.15 b
FitoMas-E 0.8	133	0.84 c
VIUSID 0.5	209	1.35 b
VIUSID 0.8	370	2.10 a
Control	166	1.20 b
MG±EE		1.28±0.10

Plantas mayores 3 cm

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ n=180

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Total de plantas obtenidas	Coefficiente de multiplicación
FitoMas-E 0.5	280	1.86 b
FitoMas-E 0.8	223	1.45 b
VIUSID 0.5	333	2.29 a
VIUSID 0.8	320	2.05 a
Control	149	1.25 b
MG±EE		1.78±0.14

Plantas menos 3 cm

Tabla 4. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cv. C90-469 a los 45 días de cultivo en condiciones de aclimatización *ex vitro*. Época de seca.

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Largo hoja +1 (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja +1	MFplanta (gMF)	MSplanta (gMS)	MFparte aérea (gMF)	MFraíces (gMF)	Número raíces	Longitud raíz más larga (cm)
FitoMas-E 0.5	10.74 ab	3.42 ab	4.4 b	40.70 a	30.05 b	3.32 c	0.82 e	2.21 b	0.85 b	8.9 b	15.20 a
FitoMas-E 0.8	11.20 ab	3.38 ab	4.7 b	40.36 a	29.93 b	3.28 c	0.90 d	2.38 b	1.05 b	8.7 b	15.80 a
VIUSID 0.5	11.36 a	3.66 a	4.6 b	43.26 a	28.42 b	4.85 a	1.07 a	3.08 a	1.98 a	12.8 a	15.05 a
VIUSID 0.8	10.48 ab	3.36 ab	5.4 a	40.05 a	34.52 a	4.40 ab	0.98 b	2.63 ab	1.99 a	10.0 b	14.36 a
Control	10.14 b	3.28 b	4.4 b	39.41 a	30.68 b	3.54 bc	0.95 c	2.28 b	1.16 b	9.9 b	15.80 a
MG±EE	10,78±0,13	3,42±0,45	4,7±0,81	40,75±0,61	30,72±0,47	3,88±0,12	0,91±0,14	2,51±0,65	1,40±0,74	10,08±0,28	15,03±0,33

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ n=30



Tabla 5. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cv. C90-469 a los 60 días de cultivo en condiciones de aclimatización *ex vitro*. Época de seca.

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Largo hoja +1 (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja +1	MFplanta (gMF)	MSplanta (gMS)	MFparte aérea (gMF)	MFraíces (gMF)	Número raíces	Longitud raíz más larga (cm)
FitoMas-E 0.5	15.33 b	4.24 a	5.33 a	49.36 a	31.09 a	7.39 a	1.23 d	4.92 a	2.51 a	10.93 ab	14.89 ab
FitoMas-E 0.8	16.97 a	4.05 a	5.53 a	50.96 a	30.91 a	7.33 a	1.31 c	5.27 a	2.28 a	10.06 b	13.89 b
VIUSID 0.5	17,70 a	3.98 a	5.80 a	49.89 a	33.84 a	7.11 a	1.39 b	5.12 a	2.51 a	12.06 a	15.66 a
VIUSID 0.8	16,70 ab	4.03 a	5.93 a	54.89 a	35.52 a	7.15 a	1.44 a	5.16 a	2.60 a	12.33 a	16.41 a
Control	15.03 bc	2.59 b	5.47 a	46.51 b	30.32 b	3.69 b	1.16 e	2.94 b	0.94 b	8.53 c	12.99 bc
MG±EE	16.38±0.20	3.78±0.93	5.61±0.08	50.32±0.94	32.34±0.46	6.53±0.22	1.30±0.01	4.77±0.15	2.17±0.10	10.38±0.23	14.77±0.26

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ $n=30$



Tabla 6. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* mayores de 3 cm de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) cv. C90-469 a los 60 días de cultivo en condiciones de aclimatación *ex vitro*. Época de lluvia.

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Largo hoja +1 (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja +1	MFplanta (gMF)	MSplanta (gMS)	MFparte aérea (gMF)	MFraíces (gMF)	Número raíces	Longitud raíz más larga (cm)
FitoMas-E 0.5	22,9 b	0,56 b	4,8 b	77,13 b	28,07 a	9,95 c	2,03 c	7,50 c	2,97 b	17,00 b	17,64 ab
FitoMas-E 0.8	27,3 a	0,63 ab	5,1 ab	90,41 a	26,38 a	16,99 ab	2,79 b	13,12 b	4,34 a	25,31 a	16,44 b
VIUSID 0.5	30,9 a	0,67 ab	5,6 a	96,59 a	27,27 a	20,76 a	3,47 a	17,26 a	3,97 ab	27,30 a	19,49 a
VIUSID 0.8	27,6 a	0,59 b	5,2 ab	91,37 a	26,57 a	15,36 b	2,67 b	11,39 b	3,70 ab	26,50 a	18,71 ab
Control	21,6 b	0,48 b	4,3 b	57,77 c	25,18 a	7,20 c	1,80 c	4,56 c	1,75 c	9,25 c	11,99 c
MG±EE	26,6±0,55	0,59±0,15	5,0±0,78	82,32±1,90	26,7±0,55	13,98±0,64	2,62±0,24	10,71±0,56	3,33±0,16	20,99±0,84	16,86±0,40

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ n=30

Tabla 7. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* menores de 3 cm de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) cv. C90-469 a los 60 días de cultivo en condiciones de aclimatación *ex vitro*. Época de lluvia.

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Largo hoja +1 (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja +1	MFplanta (gMF)	MSplanta (gMS)	MFparte aérea (gMF)	MFraíces (gMF)	Número raíces	Longitud raíz más larga (cm)
FitoMas-E 0.5	24,05 ab	0,50 ab	4,5 b	80,19 a	26,00 a	11,23 bc	1,65 c	8,75 b	2,41 b	21,6 a	17,65 a
FitoMas-E 0.8	22,43 ab	0,46 ab	4,8 b	71,32 ab	21,95 b	12,16 b	1,92 b	8,64 b	3,31 ab	18,7 ab	18,14 a
VIUSID 0.5	23,97 ab	0,52 ab	5,0 b	72,27 ab	23,24 b	10,67 bc	1,95 b	8,45 b	2,19 b	17,9 ab	19,23 a
VIUSID 0.8	25,46 a	0,51 ab	5,7 a	74,53 ab	26,79 a	18,00 a	2,15 a	14,34 a	3,60 a	18,3 ab	21,37 a
Control	20,21 b	0,40 b	4,6 b	65,74 b	23,69 b	7,59 c	1,22 d	5,85 b	1,80 b	15,2 b	21,32 a
MG±EE	23,2±0,49	0,48±0,13	4,9±0,75	72,90±1,13	24,37±0,45	11,91±0,56	1,54±0,08	9,21±0,46	2,65±0,14	17,7±0,49	19,54±0,47

Medias con letras distintas en un misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ $n=30$

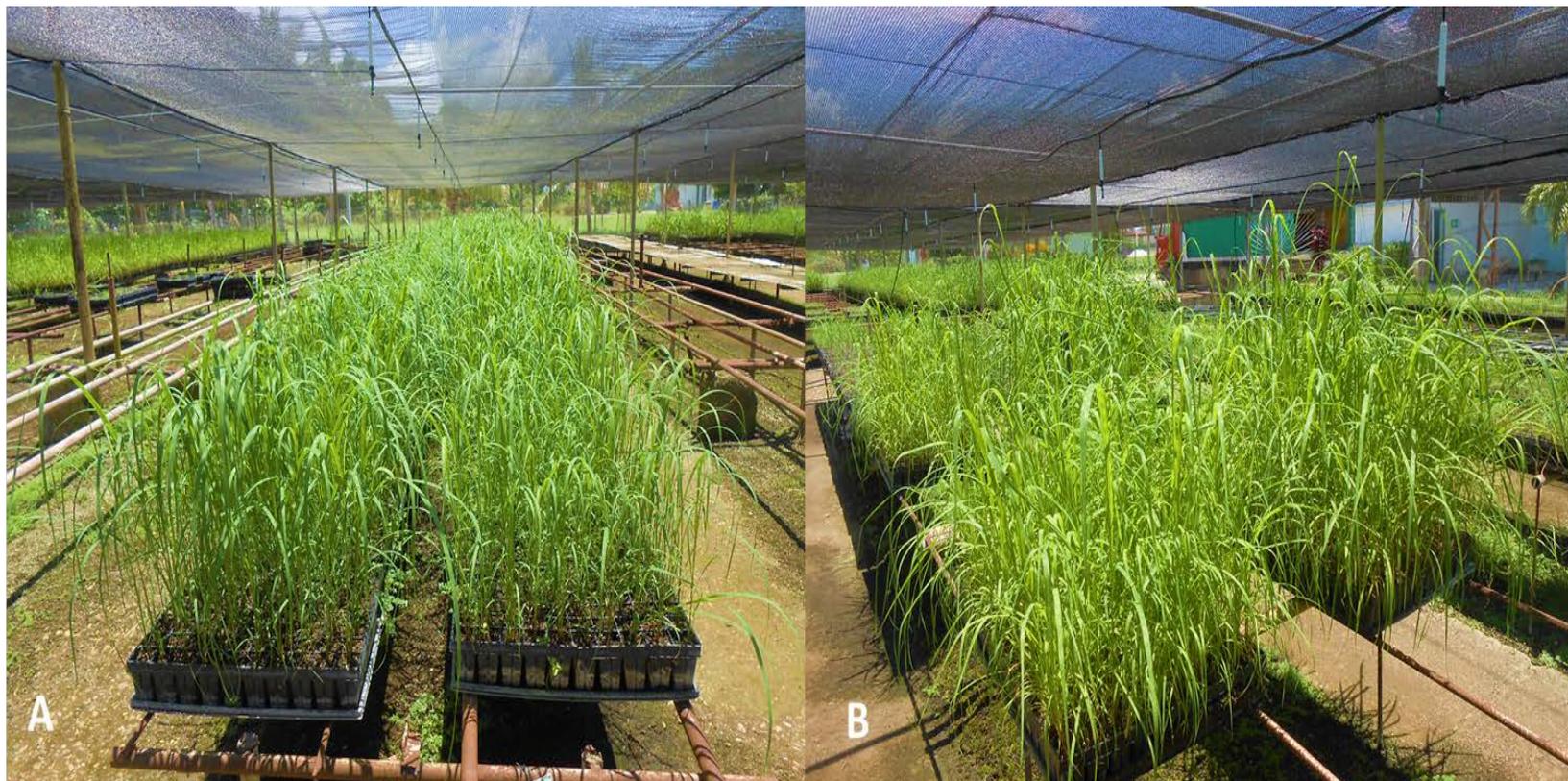


Figura 6. Plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 de los diferentes tratamientos en condiciones de aclimatización *ex vitro* (umbráculo) a los 60 días después del trasplante. (A) Época seca (B) Época de Lluvia

ESCALADO DEL USO DEL VIUSID agro EN LA ACLIMATIZACIÓN DE CULTIVARES DE CAÑA DE AZÚCAR.

C1051-73



C86-156



□ Incremento de la supervivencia y el crecimiento en la fase de aclimatización de la biofábrica (Umbráculo).

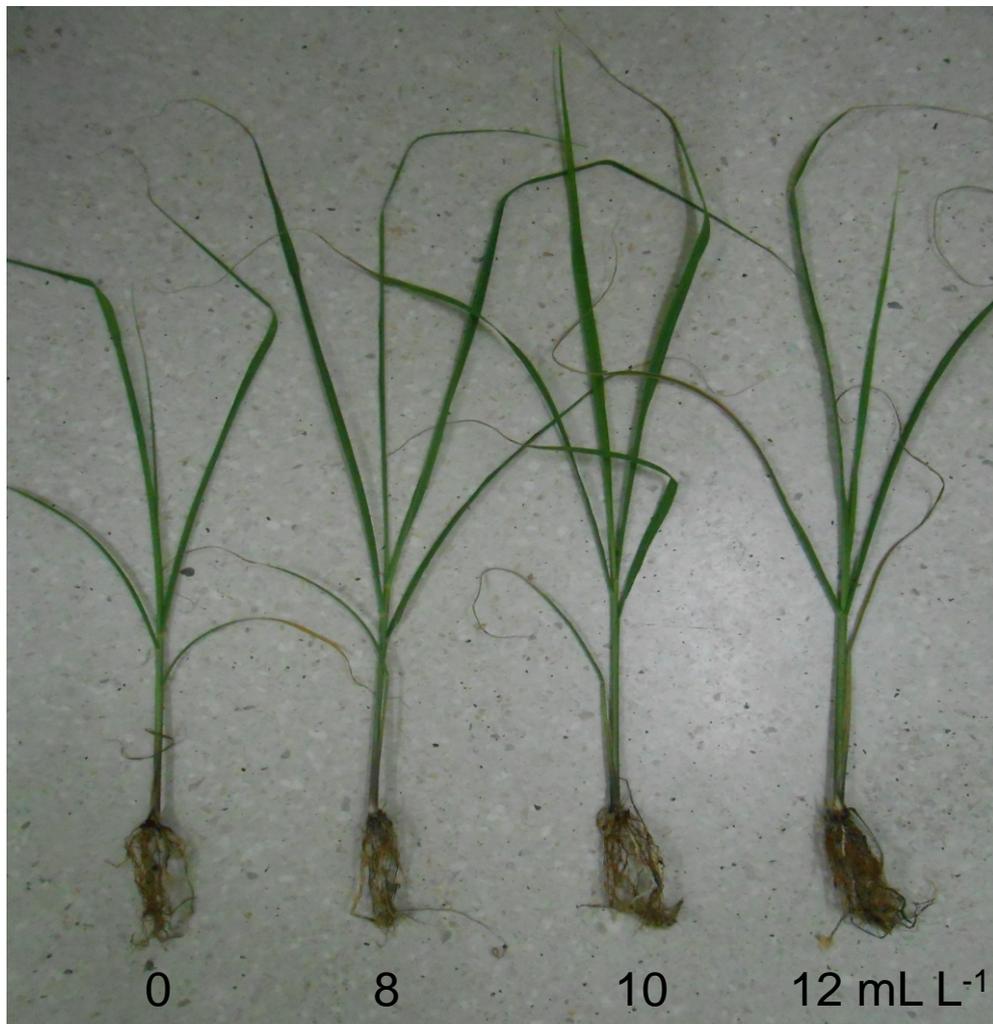
3.-Empleo del Lebame



Bioproducto constituido por los siguientes microorganismos de la colección de cultivos del **ICIDCA**. *Bacillus subtilis* B/23-45-10 Nato, *Lactobacillus bulgaricum* B/103-4-1 y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12.

Se produce a partir de un inóculo de los microorganismos, con miel final de caña de azúcar y sulfato de amonio a través de un proceso fermentativo.

Evaluación del Lebame® a los 45 días de cultivo en condiciones ex vitro





□ Incremento del porcentaje de enraizamiento y la calidad de las plantas *in vitro*

Uso de nuevas sustancias estimulantes del proceso de enraizamiento

in vitro

- _ FitoMas-E®
- _ Floroglucinol (Compuesto fenólico)
- _ Bayfolan® Forte (Bayer Crop Science)

ex vitro

- _ Bioenraiz®



INICA

Siempre junto
al Productor

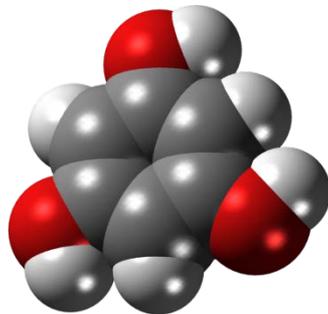
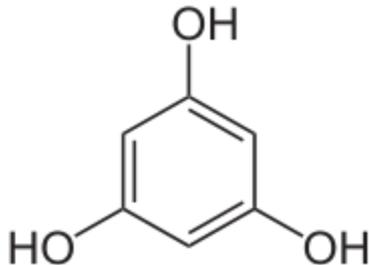
FLOROGLUCINOL

Compuesto Fenólico

Obtenido de árboles frutales y algas marinas (*Ecklonia maxima*)

Soluble en agua

Formula Molecular: $C_6H_6O_3$



Propiedades como regulador del crecimiento

Efecto positivo en: lignificación, enraizamiento,
reducción de la hiperhidricidad,
defensa contra patógenos
insecticida



INICA

Siempre junto
al Productor

MATERIALES Y MÉTODOS



Difícil enraizamiento

Brotos *in vitro* del cultivar 'C90-469' con 9 subcultivos en medio de cultivo de multiplicación.

Medio de cultivo de enraizamiento

Sales MS (100%), tiamina 1 mg L⁻¹, Sacarosa 40 g L⁻¹, estado líquido y pH 5.8

Enraizamiento *in vitro*

Tratamientos	AIA (mg L ⁻¹)	Floroglucinol (mg L ⁻¹)
T1 (control)	1.3	0*
T2	0	10,0
T3	0	15,0
T4	0	20,0
T5	1.3	10,0
T6	1.3	15,0
T7	1.3	20,0

Tabla . Efecto del Floroglucinol en el crecimiento y enraizamiento *in vitro* de plantas de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) cultivar C90-469, a los 15 días de cultivo.

AIA (mg L ⁻¹)	FG (mg L ⁻¹)	Altura (cm)	No. de hojas	Masa fresca (gMF)	Longitud de la raíz (cm)	No. de raíces	Enraizamiento (%)
1.3	0*	3.16 b	3.24 a	0.10 c	0 d	0	0
0	10,0	3.27 b	3.25 a	0.16 b	0.98 b	1.56 b	53.3 c
0	15,0	3.15 b	3.24 a	0.12 c	0.58 c	2.00 b	46.6 c
0	20,0	3.18 b	3.22 a	0.13 c	0.46 c	1.25 b	40.0 c
1.3	10	3.23 b	3.25 a	0.18 b	0.64 c	2.20 b	66.6 b
1.3	15	3.29 b	3.26 a	0.20 a	0.97 b	3.73 a	83.3 b
1.3	20	3.70 a	3.27 a	0.21 a	1.29 a	4.90 a	100 a

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p < 0,05$ (n=50) (*Control)



INICA

Siempre junto
al Productor



Figura 1. Comparación del efecto de las concentraciones de floroglucinol en combinación con el AIA, en el enraizamiento *in vitro* de los brotes de caña de azúcar (*Saccharum spp.* cultivar 'C90-469'), a los 15 días de cultivo. (A) Control sin floroglucinol (B) 10 mg L⁻¹ de floroglucinol (C) 15 mg L⁻¹ de floroglucinol (D) 20 mg L⁻¹ de floroglucinol

Aclimatización *ex vitro*

El tratamiento con 20 mg L⁻¹ de floroglucinol y 1.3 mg L⁻¹ de AIA alcanzó el mayor porcentaje de supervivencia (87.8%) superando al control (68.4%) .

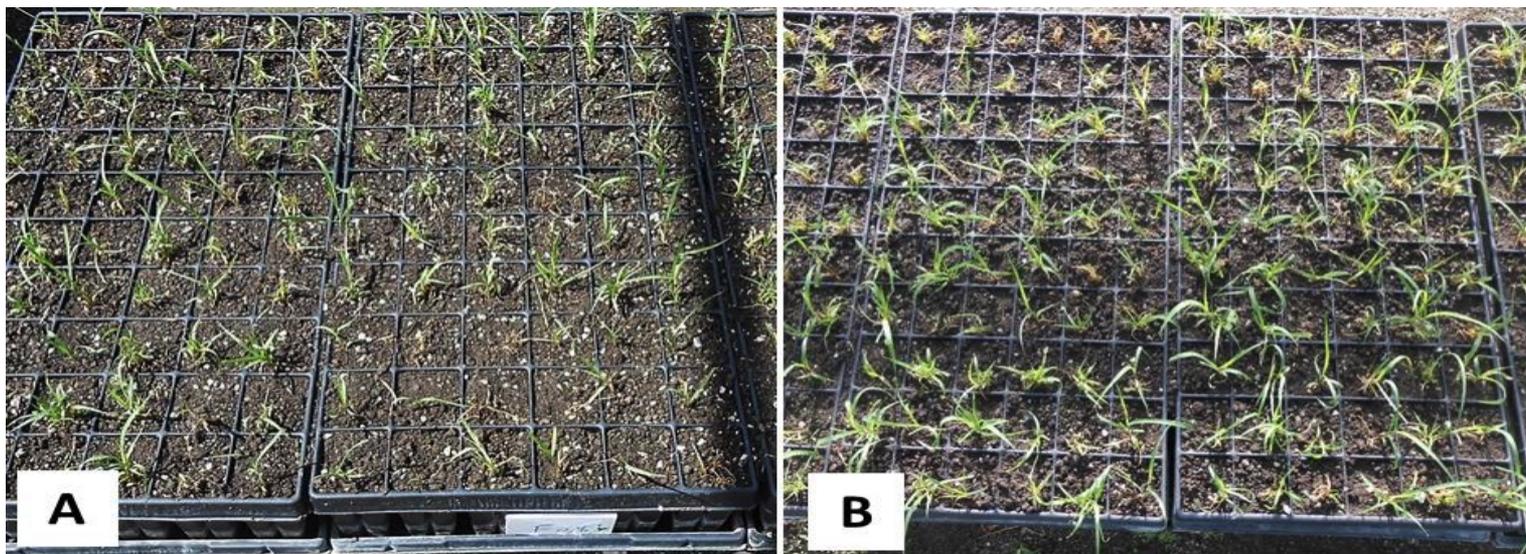


Figura 2. Bandejas con plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. 'C90-469') después de 15 días del trasplante en condiciones de aclimatización *ex vitro*. (A) Control sin floroglucinol (B) Floroglucinol 20 mg L⁻¹ + 1.3 mg L⁻¹ de AIA.

ESCALADO DEL USO DEL FLOROGLUCINOL EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.



C1051-73



C90-469

ESCALADO DEL USO DEL FLOROGLUCINOL EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTES DE CAÑA DE AZÚCAR.

C 90-469



C86-156





Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL FLOROGLUCINOL EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.



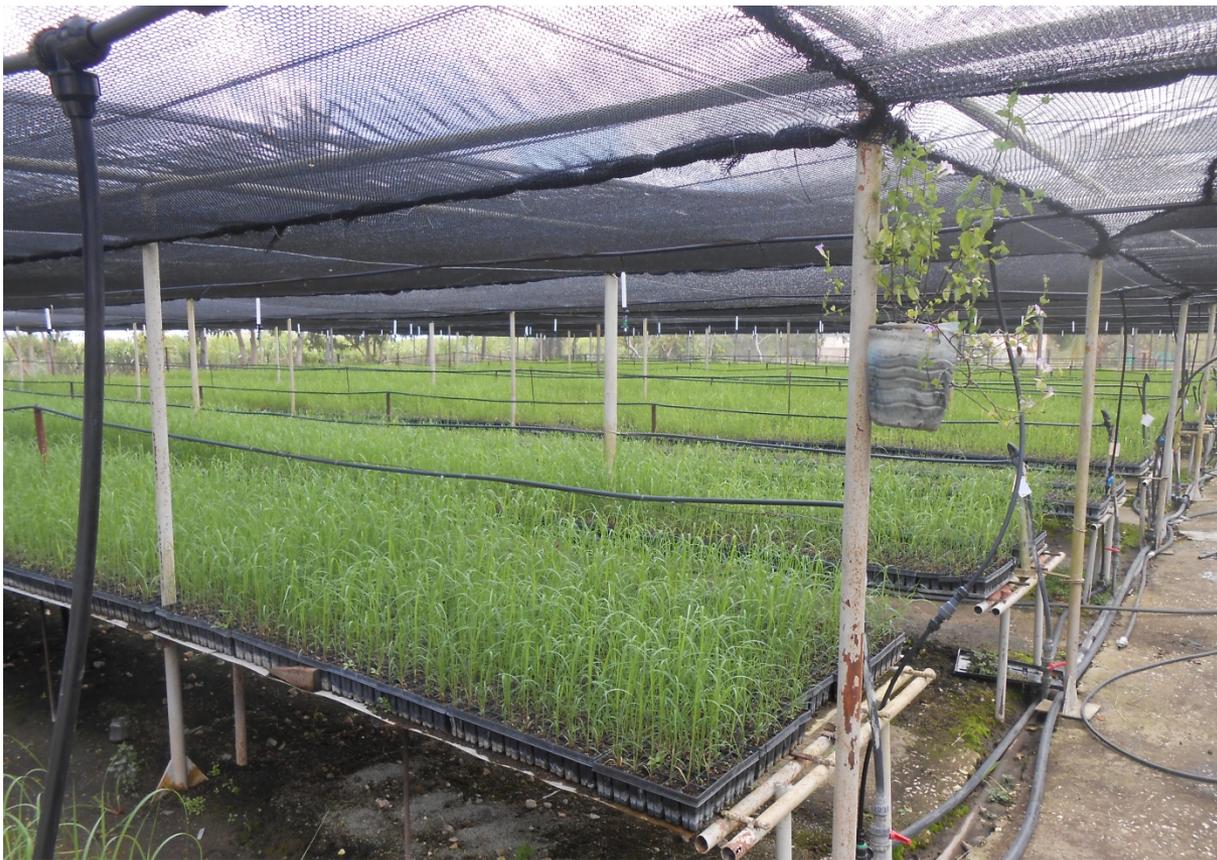
C1051-73



INICA

Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL FLOROGLUCINOL EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.



HASTA LA FECHA

Se empleó en el enraizamiento de 226 500 plantas *in vitro* de cuatro cultivares que están en la Fase de Aclimatización *ex vitro*



Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BAYFOLAN® FORTE EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTES DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469





Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BAYFOLAN® FORTE EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469





Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BAYFOLAN® FORTE EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C86-156





Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL FITOMAS-E® FORTE EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE BROTOS DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469



RESULTADOS

Tabla 1. Efecto del FitoMas-E sobre las principales variables morfológicas a los 15 días de cultivo en la fase de enraizamiento

Tratamientos	Cultivares	Brotos con raíz (%)	Altura del brote (cm)	Número de hojas	Longitud de la raíz(cm)
1.3mg L ⁻¹ de AIA (Control)	CP52-43	96.5 a	4.11 cd	3.3 b	1.35 ef
	C87-51	100 a	3.85 de	3.0 b	2.33 c
	C1051-73	75.8 c	3.46 e	2.5 c	1.91 d
0.5 mL L ⁻¹ de FitoMas-E	CP52-43	97.4 a	4.43 bc	3.1 b	1.27 f
	C87-51	98.6 a	4.35 bc	2.9 b	2.42 c
	C1051-73	84.0 b	4.35 bc	3.0 b	2.75 ab
1.0 mL L ⁻¹ de FitoMas-E	CP52-43	98.6 a	4.53 b	3.4 a	1.40 ef
	C87-51	100 a	5.47 a	3.7 a	2.75 ab
	C1051-73	69.6 c	4.16 cd	3.1 b	2.75 ab
1.5 mL L ⁻¹ de FitoMas-E	CP52-43	95.6 a	2.80 f	3.1 b	1.39 ef
	C87-51	95.8 a	4.69 b	2.9 b	2.61 bc
	C1051-73	73.4 c	4.11 cd	3.0 b	2.97 a
EE		90 ± 2.2	4.19 ± 0.8	3 ± 0.23	3 ± 0.23
C V		11.7	10.6	13	13

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Kruskal-Wallis / Mann-Whitney para $p < 0,05$ (n=30) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación



Plantas *in vitro* de caña de azúcar cultivar C87-51 enraizadas con 1 mL L⁻¹ de FitoMas-E. Condiciones de cultivo *in vitro* y *ex vitro*.



Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BIOENRAIZ[®] EN EL ENRAIZAMIENTO *EX VITRO* DE BROTES DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469



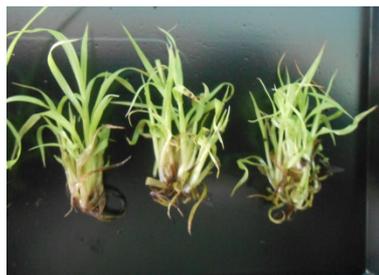
ICIDCA. Cuba



INICA

Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BIOENRAIZ[®] EN EL ENRAIZAMIENTO *EX VITRO* DE BROTES DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469





INICA

Siempre junto
al Productor

ESCALADO DEL USO DEL BIOENRAIZ® EN EL ENRAIZAMIENTO *EX VITRO* DE BROTES DE CAÑA DE AZÚCAR.CV. C90-469





Empleo de la embriogénesis somática para la propagación de plantas en laboratorios comerciales de cultivo de tejidos



CNIC, IBP-UCLV y Centro de Bioplantitas-UNICA, INICA.
1990

Métodos de regeneración en Biotecnología de las plantas

Organogénesis

Se basa en la abolición de la dominancia apical y la proliferación de yemas axilares o adventicias



Embriogénesis somática

Es la formación de embriones a partir de células somáticas





Embriogénesis Somática

VENTAJAS SOBRE LA MICROPROPAGACIÓN CONVENCIONAL:

- ❖ Permite el cultivo de gran número de embriones somáticos, con la obtención hasta de 1,35 millones de embriones somáticos por litro de medio de cultivo capaces de regenerar plantas.
- ❖ Durante la regeneración, la formación de las raíces y los brotes es simultáneo, lo cual elimina la necesidad de la fase de enraizamiento necesaria en la micropropagación convencional.
- ❖ El modo de cultivo permite un fácil escalado y subcultivos con bajo empleo de mano de obra.



Embriogénesis Somática

VENTAJAS SOBRE LA MICROPROPAGACIÓN CONVENCIONAL:

- ❖ Saneamiento a virus.
- ❖ Los cultivos pueden ser manipulados permitiendo que la formación y germinación de los embriones somáticos pueda ser sincronizados, maximizando la formación de plantas completas y reduciendo la laboriosidad del proceso.
- ❖ Incremento de la resistencia a enfermedades.
- ❖ Como en el embrión cigótico, en los embriones somáticos puede ser inducida la dormancia permitiendo su conservación durante largo tiempo.



Embriogénesis Somática

Limitaciones de la embriogénesis somática hoy:

- **El desarrollo de los embriones somáticos tiende a ser no sincrónico.**
- **La estabilidad de las líneas celulares.**
- **Desarrollo de la fase de maduración.**

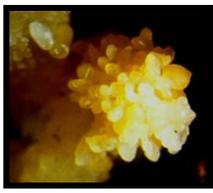


Embriogénesis Somática

La producción masiva de plantas a través de la multiplicación de líneas de células embriogénicas es la más atractiva aplicación comercial de la embriogénesis somática (Jiménez, 2001), y es la mayor aplicación práctica de esta técnica en beneficio de la agricultura moderna.



Inflorescencia masculina inmadura.



Embriones somáticos globulares.



Establecimiento de suspensiones celulares homogéneas. 45 días.



Multiplicación de las suspensiones celulares. 3% VCS.



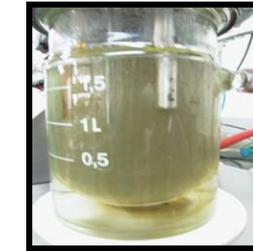
Formación de embriones somáticos globulares. 30 días, 100 mgMF



Multiplicación secundaria en agitadores orbitales. 60 días, 0.6 gMF



Maduración de los embriones somáticos 22 días, 400 mgMF



Multiplicación a escala de biorreactores. 21 días, 80% DO2 y pH 4.



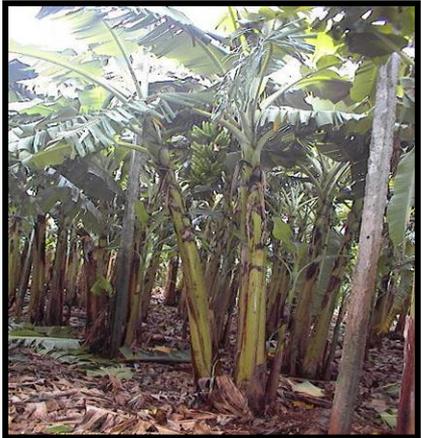
Germinación en SIT (10 L). 70 gMF de embriones maduros.



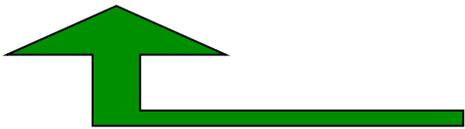
Fase de aclimatización. 45 días.



Germinación en SIT (RITA). 45 días, 0.01 mg. L⁻¹ Biobras-6 y 0.5 gMF de embriones.



Estudios durante dos ciclos en campo. 2 años.



Esquema de la embriogénesis somática en medios de cultivo líquidos en el cultivar de banano FHIA-18 (AAAB). Premio Nacional de AC de Cuba, año 2001



Plantas *in vitro* saneadas y diagnosticadas. 3-7 subcultivos



Segmento 2 de la vaina de la hoja. 2 mm de grosor



Formación de callos con estructuras embriogénicas. 2,4-D 3.0 mg.L⁻¹ 30 Días



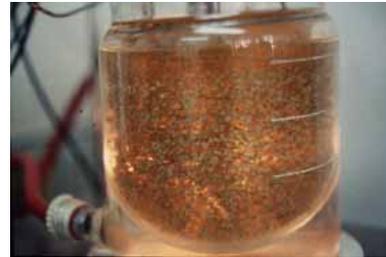
Establecimiento de líneas celulares embriogénicas. 20 Días



Multiplicación de las suspensiones embriogénicas. 2,4-D 0.5 mg.L⁻¹ 20% VCS 10 días



Campo



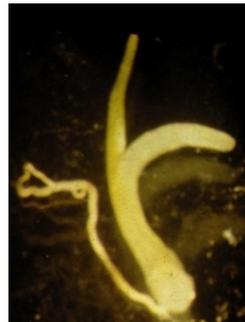
Diferenciación a escala de biorreactor. 22 Días



Diferenciación en agitador orbital. 30 Días, 2,4-D 0.25 mg.L⁻¹ 10% VCS



Fase de aclimatización. 45 Días



Germinación. 20 Días



Maduración de los embriones somáticos. Sacarosa 50 g.L⁻¹ y ABA 0.5mg.L⁻¹ 30 Días.

Esquema propuesto para desarrollar la embriogénesis somática en caña de azúcar a partir de segmentos de plantas *in vitro* colocados directamente en medio de cultivo líquido. Premio Nacional de AC de Cuba, año 2000

ETAPA 1

Agitador orbital con embriones somáticos de caña de azúcar





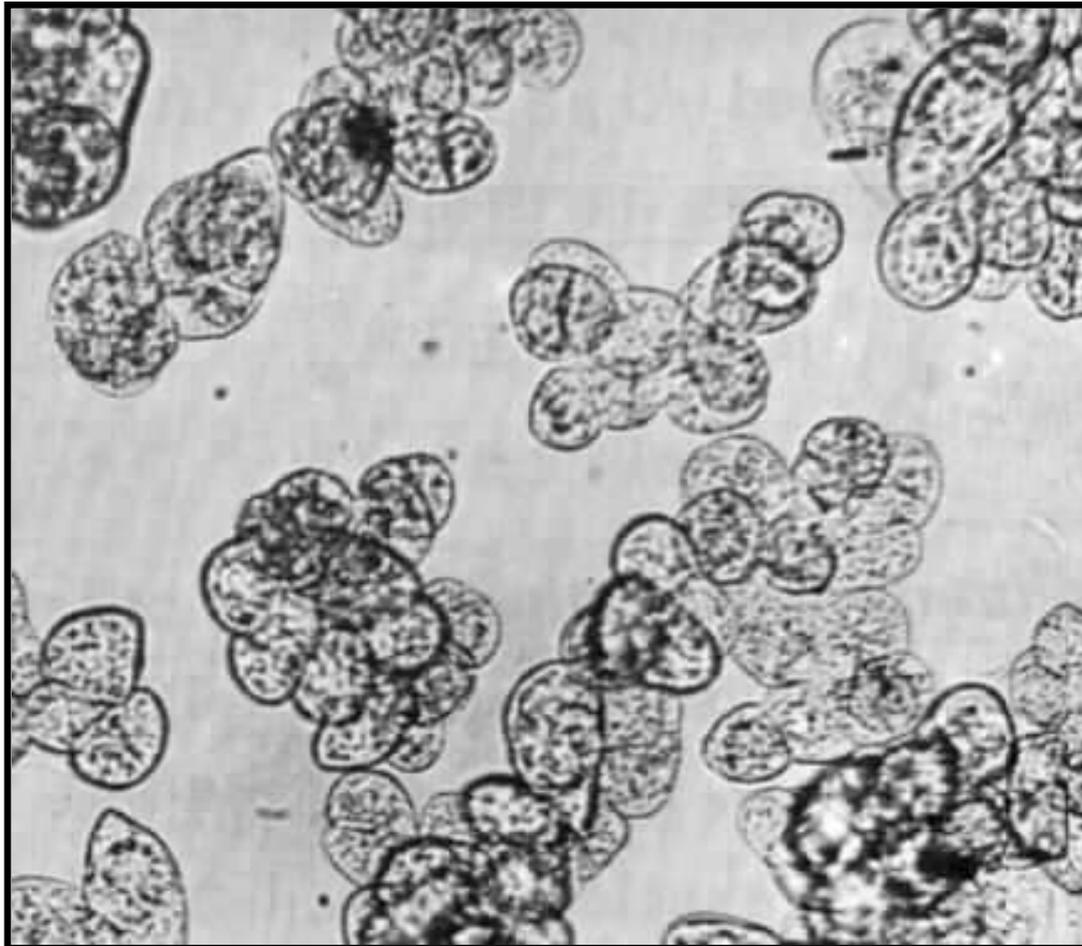


Cultivo de Células Embriogénicas en Suspensión

Es el cultivo de un conjunto de agregados celulares en un medio de cultivo líquido, en constante agitación orbital.

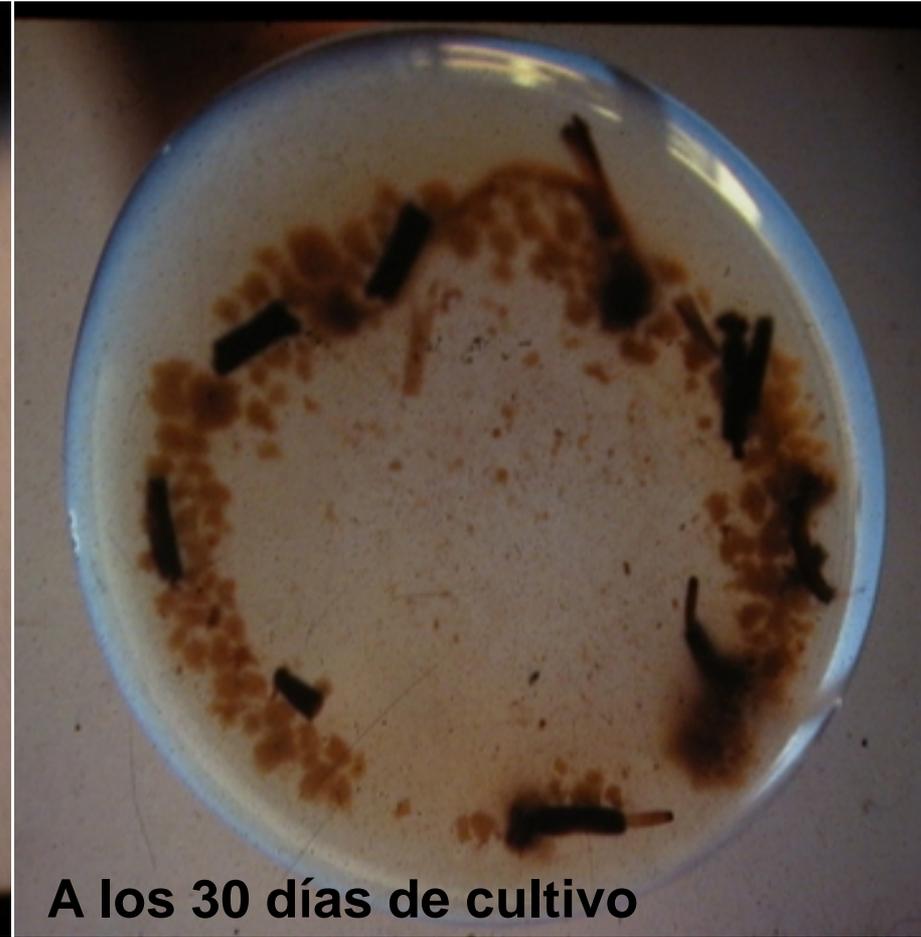


Células de caña de azúcar cultivadas *in vitro* en medio de cultivo líquido



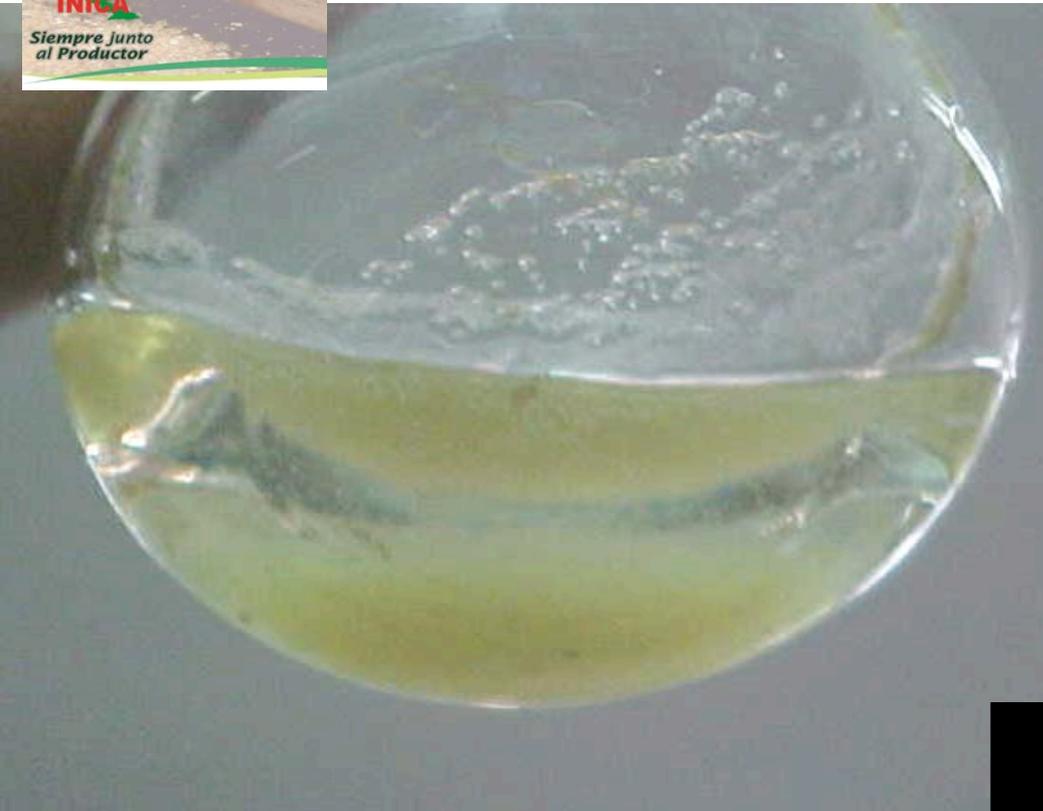


A los tres días de cultivo



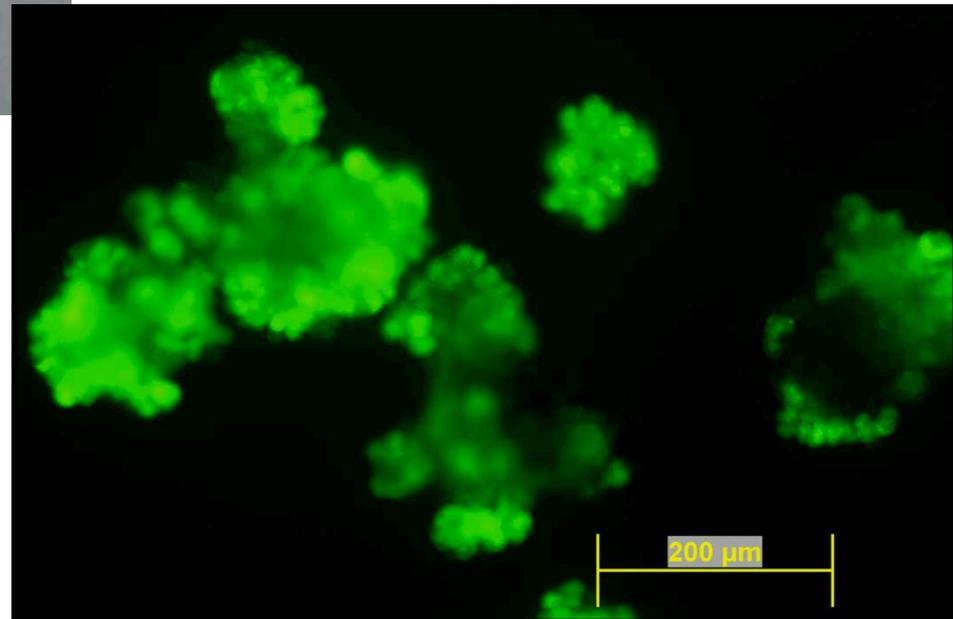
A los 30 días de cultivo

Crecimiento de los segmentos de las plantas *in vitro*.

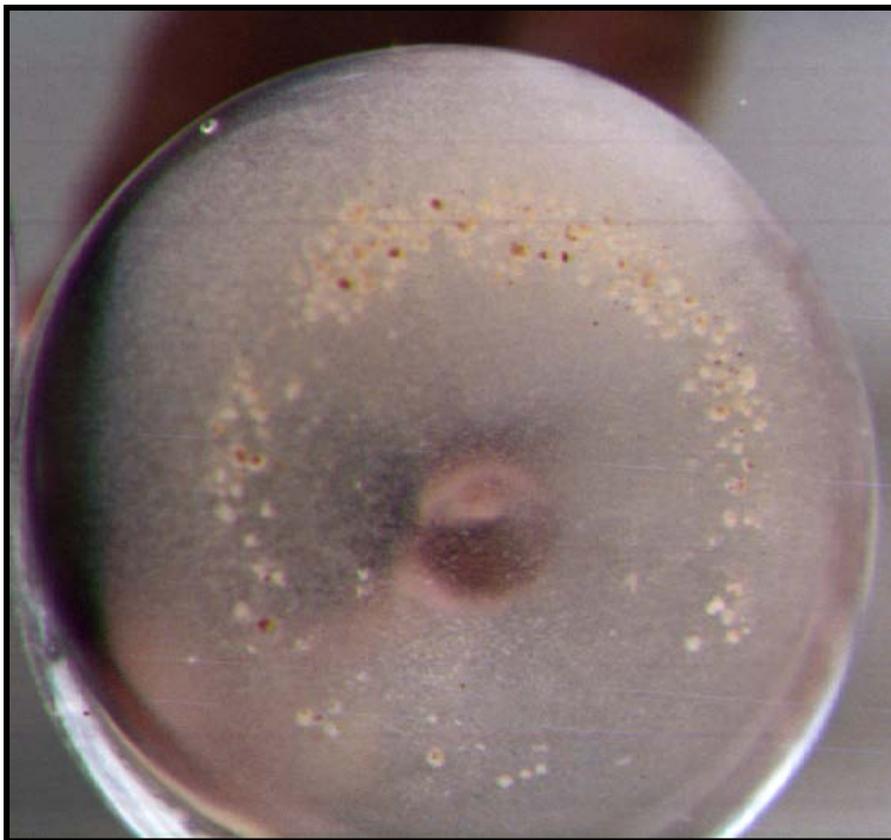


**Suspensiones celulares
embriogénicas en fase de
crecimiento exponencial,
con 100% de vitalidad
celular.**

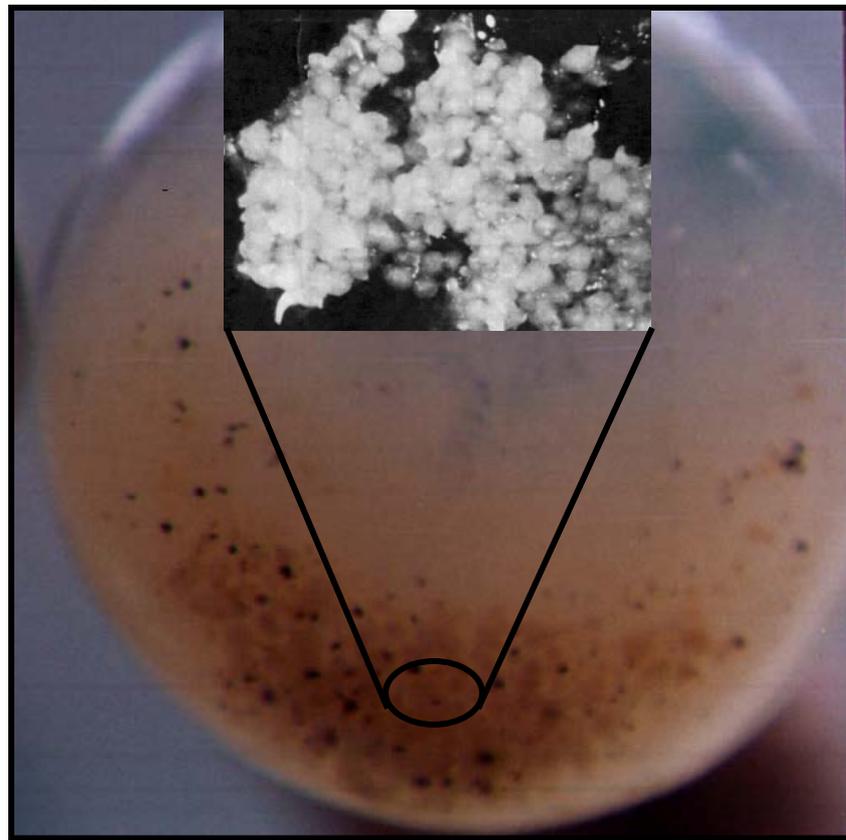
Vitalidad con FDA



Diferenciación de las suspensiones celulares embriogénicas



A



B

Aspecto de la suspensión celular embriogénica de caña de azúcar, a los 20 días de cultivo (A) y a los 30 días de cultivo (B) en el tratamiento con 0.25 mg.L^{-1} de 2,4-D.



ESCALADO DE LA TECNOLOGÍA

Número total de plantas obtenidas a partir de 120 mL de suspensiones celulares embriogénicas de caña de azúcar

Fases de la Embriogénesis somática	Cantidad de embriones
Formación	22 800 ± 50.0
Maduración	24 150 ± 21.0
Germinación	22 218 plantas

Porcentaje de germinación: 92.0%

Conversión en fase de aclimatización *ex vitro*: 95.4%

**Organogénesis. Fase de multiplicación
120 mL de medio de cultivo= 2 frascos plásticos con 10 brotes cada uno**

ETAPA 2

Biorreactor con embriones somáticos de caña de azúcar





Embriones somáticos obtenidos a partir de la diferenciación de suspensiones celulares embriogénicas en un biorreactor de 2 litros



Germinación de embriones somáticos obtenidos del biorreactor en Sistemas de Inmersión Temporal



Nuevos Biorreactores



Casa de cultivo para la aclimatización *ex vitro* de las plantas



Tabla. Respuesta en condiciones de campo de plantas regeneradas de embriones producidos en biorreactor. Caña planta.

Tratamientos	Altura (cm)	Diámetro (mm)	No tallos/p
Estacas	295 ab	27.0 a	8.0 c
Organogénesis	299 a	25.6 b	11.5 b
Plantas de ES	300 a	25.6 b	13.5 a
ES	± 0.066	± 0.063	± 0.79
Cv	0.20%	0.15%	0.52%

Letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0.05$ según la comparación múltiple basada en la prueba de Duncan y Dunnett's C para el No. de tallos /p.

Tabla. Respuesta en condiciones de campo de plantas regeneradas de embriones producidos en biorreactor. Primer retoño.

Tratamientos	Altura (cm)	Diámetro (mm)	No tallos/p
Estacas	291 b	24.0 a	8.0 c
Organogénesis	300 a	23.0 b	11.1 b
Plantas de ES	302 a	23.1 b	12.7 a
ES	± 0.066	± 0.063	± 0.79
Cv	0.20%	0.15%	0.52%

Letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0.05$ según la comparación múltiple basada en la prueba de Duncan y Dunnett's C para el No. de tallos /p.

Cambiar la tecnología de la siembra de la caña de azúcar



OFERTAMOS...

- Plantas *in vitro* de caña de azúcar.
- Plantas *in vitro* de bananos y plátanos.
- Plantas *in vitro* de plantas ornamentales y flores
- Cursos y entrenamientos.
- Asesorías técnicas a laboratorio comerciales.
- Ofertas de biofábricas.
- Elaboramos protocolos de propagación “*in vitro*”.





INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA CAÑA DE AZÚCAR

- 1- Asesoría al trabajo agrícola en las fabricas de azúcar.
- 2- *Estudio de suelos para el manejo integral de la caña de azúcar.*
- 3- *Proyectos sobre temáticas específicas relacionadas con la agricultura cañera y otros.*
- 4- Capacitación y asesoría a directivos y productores cañeros.
- 5- Impartición de maestrías en caña de azúcar.
- 6- Asesoría de tesis de doctorados.
- 7- *Toma y preparación de monolitos para establecimiento de colecciones de suelo.*

OFERTAS



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
DE LA CAÑA DE AZÚCAR**

Gracias

THANK YOU VERY MUCH