

CERTIFICACIÓN FITOSANITARIA DE VITROPLANTAS DE *Saccharum* spp., PARA ESTABLECER SEMILLEROS BÁSICOS

PHYTOSANITARY CERTIFICATION OF VITROPLANTS OF *Saccharum* spp., TO ESTABLISH BASIC SEEDBEDS

Bello-Bello J. J.^{1*} y Flores-Revilla C.²

¹ Colegio de Postgraduados-Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Municipio de Amatlán de los Reyes, C. P. 94946, Veracruz, México.

² Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, Río Niágara No 11-1, Col. Cuauhtémoc, C.P. 06500, D.F., México.

*Autor responsable: jericobello@gmail.com

RESUMEN

El saneamiento y propagación *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es importante para la obtención de semilleros certificados: planta libre de patógenos, genéticamente homogénea y vigorizada. Se describe el proceso de certificación para la producción de plántula de caña de azúcar ante el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), utilizando Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV) para el establecimiento de semilleros básicos y certificados. Se utilizaron ápices como explantes sometidos a termohidroterapia y cultivados *in vitro* en medio semisólido Murashige y Skoog con reguladores de crecimiento para inducir la regeneración celular y se aplicaron nanopartículas de plata para eliminar enfermedades. Después de tres subcultivos, se tomaron brotes como muestra de material vegetal y fueron enviadas al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) para su diagnóstico, resultando negativo para las principales enfermedades de caña de azúcar. Finalmente, los brotes fueron transferidos a Biorreactores de Inmersión Temporal para su multiplicación a gran escala para establecer semilleros básicos y certificados.

Palabras clave: Micropropagación, Sanidad vegetal, vitroplanta.

ABSTRACT

The *in vitro* sanitation and propagation of sugar cane (*Saccharum* spp.) is important to obtain certified seedbeds for plants that are free of pathogens, genetically homogeneous and invigorated. The process of certification of sugar cane seedling production is described, before the National Service for Agrifood Sanitation, Innocuousness and Quality (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, SENASICA), using Plant Tissue Cultivation (PTC) for the establishment of basic and certified seedbeds. Apices were used as explants subjected to thermos-hydrotherapy and were cultivated *in vitro* in semisolid Murashige and Skoog medium, with growth regulators, to induce cellular regeneration, and silver nanoparticles were applied to eliminate diseases. After three sub-cultivations, buds were taken as samples of plant material and sent to the National Center for Phytosanitary Reference (Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, CNRF) for their diagnosis, and it was negative for the principal sugar cane diseases. Finally, the buds were transferred to Temporary Immersion Bioreactors for their large-scale multiplication to establish basic and certified seedbeds.

Keywords: Micropropagation, plant sanity, vitroplant.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 3, marzo, 2016. pp: 35-39.

Recibido: septiembre, 2015. **Aceptado:** marzo, 2016.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es uno de los más importantes en la economía de México. Sin embargo, su producción está caracterizada por bajo rendimiento en campo debido, entre otras causas, a la escasa renovación de plantaciones por la falta de material vegetativo certificado. De acuerdo a Flores (2001), las variedades de caña envejecen con el transcurso de los años, perdiendo poder productivo, el cual pueden llegar a deteriorarse y finalmente desaparecer del cultivo comercial. En México, la mayor parte de la semilla vegetativa es propagada por métodos convencionales mediante siembra de esquejes que contienen yemas, sin embargo, esto no garantiza el saneamiento y rejuvenecimiento de las variedades seleccionadas en campo. Una alternativa es el uso de las técnicas de Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV), para obtener plantas rejuvenecidas, genéticamente homogéneas y libres de plagas y enfermedades. En caña de azúcar, mediante técnicas de micropropagación o clonación *in vitro* de plantas, se puede llegar a tener un suministro de material vegetal de manera constante, a diferencia de la propagación vegetativa convencional, que es de naturaleza estacional. La micropropagación ha permitido la rápida multiplicación de nuevas variedades, el rejuvenecimiento de variedades deterioradas y la facilitación del transporte de material vegetal (Lal *et al.*, 2014). Sawant *et al.* (2014) mencionan que la micropropagación de caña de azúcar aumenta la productividad en campo (hasta 25%) y el rendimiento en azúcar por unidad de superficie. Estas ventajas han permitido la explotación comercial de la micropropagación en la industria azucarera a nivel mundial (Pandey *et al.*, 2011). Actualmente los avances biotecnológicos han permitido hacer de la micropropagación en caña de azúcar una técnica rentable. En México, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), dependencia de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV-SAGARPA), certifica los procedimientos para la obtención de vitroplantas de caña de azúcar libre de plagas y enfermedades, y determina los requisitos necesarios para la certificación fitosanitaria relacionada al cultivo *in vitro* de la misma bajo la Ley Federal de Sanidad Vegetal en el Artículo 7 fracción XIII, XIX y XXI; 19 Fracción I incisos f, g, h, k y Normas Oficiales Fitosanitarias NOM-016-FITO 1995 y NOM-036-FITO-1995. Para obtener la certificación, un laboratorio debe cumplir una serie de requisitos que demuestren la capacidad técnica, organizativa y sanitaria para la producción de material vegetal *in vitro*. En este sentido, el objetivo de este trabajo

fue obtener la certificación de procedimientos para la producción de vitroplantas de caña de azúcar libres de plagas y enfermedades mediante técnicas de cultivo *in vitro* en dos laboratorios de CTV de caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ápices como explantes y fueron sometidos a termohidroterapia. Posteriormente, los meristemos fueron extraídos bajo condiciones asépticas y cultivados *in vitro* en medio semisólido Murashige y Skoog (1962) conteniendo 2 mg L^{-1} de benciladenina, para inducir la regeneración celular, y 50 mg L^{-1} de nanopartículas de plata para la eliminación de enfermedades. Se solicitó ante SENASICA la certificación del laboratorio de CTV del Colegio de Postgraduados (COLPOS) *Campus* Córdoba y el Laboratorio de CTV del Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (CIDCA). El SENASICA emitió una serie de requisitos que debían cumplir los laboratorios para su certificación. Se presentó una evidencia documental y presencial de los requisitos. El SENASICA envió un evaluador en sitio para verificar los criterios de evaluación requeridos en la certificación. El evaluador (Jefe del Departamento de Cuarentena y Saneamiento) del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), evaluó las instalaciones de los Laboratorios, sus procedimientos y realizó la toma de muestras de material vegetal para el diagnóstico fitosanitario de las plagas y enfermedades cuarentenarias reglamentadas en la NOM-016-FITO-1995 (Cuadro 1).

Finalmente, el evaluador emitió una lista de sugerencias y recomendaciones para obtener la certificación de los laboratorios. La Figura 1 muestra el proceso para obtener el certificado fitosanitario de cumplimiento de la NOM-016-FITO-1995 y de producción de material vegetal *in vitro*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los requisitos, y recomendaciones emitidas por el evaluador fueron atendidos satisfactoriamente. Los diagnósticos realizados por el CNRF con número de orden 56677 y 86507, para el COLPOS *Campus* Córdoba y el CIDCA respectivamente fueron negativos para todas las enfermedades (Cuadro 2), por lo que se obtuvo la certificación para la producción de vitroplántulas de caña de azúcar para ambos laboratorios. A la fecha, los laboratorios de CTV del *Campus* Córdoba y el CIDCA, cuentan con la certificación de los métodos empleados en cultivo *in vitro* de plantas de caña de azúcar en México, con la

Cuadro 1. Organismos plagas cuarentenarias reglamentadas en la NOM-016 FITO-1995 para material vegetal de *Saccharum* spp., libre.

Nombre Común	Nombre científico
Escama de la caña de azúcar	<i>Aulascaspis tegalensis</i>
Chicharrita de la caña de azúcar	<i>Perkinsiella sacharicida</i>
Cicadela de la caña de azúcar	<i>Pyrrilla perpusilla</i>
Barrenador manchado del tallo	<i>Chilo partellus</i>
Barrenador de la caña de azúcar	<i>Eldana saccharina</i>
Barrenador púrpura del tallo de la caña de azúcar	<i>Sesamia inferens</i>
Piojo harinoso de Kenya	<i>Planococcus kenyae</i>
Taladrador gigante de la caña de azúcar	<i>Castnia licoides</i>
Mildiú suave de la caña de azúcar	<i>Peronosclerospora sacchari</i>
Gomosis de la caña de azúcar	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vasculorum</i>
Raquitismo de las socas	<i>Leifsonia xyli</i> ssp. <i>xyli</i>
Cancro bacteriano	<i>Dickeya chrysanthemi</i>
Marchites bacteriana	<i>Pantoea stewartii</i>
Escaldadura de la hoja	<i>Xanthomonas albilineans</i>
Virosis	<i>Sugar Cane Streak Virus</i> .
Virosis	<i>Sugarcane Sereh virus</i>
Cuervo de la caña de azúcar	<i>Sphacelotheca erianthi</i>
Cuervo de la caña de azúcar	<i>Sphacelotheca macrospora</i>
Carbón de la caña de azúcar	<i>Ustilago scitaminea</i>

certificación 01/2016/COLPOS y 02/2016/CIDCA respectivamente. Una vez obtenida la certificación, se inicia con la producción masiva de vitroplantas mediante Biorreactores de Inmersión Temporal semiautomatizados (Figura 2).

De acuerdo a Caamal-Velázquez y Bello-Bello (2014), con plántulas certificadas es posible establecer un semillero básico con aproximadamente 10,000 vitroplántulas por hectárea, y después de 7-8 meses de desarrollo, deberá cumplir con los siguientes requisitos de calidad: Sanidad vegetal: libres de plagas y enfermedades; Alta pureza varietal: no haber más de una variedad dentro del semillero; Homogeneidad genética: sin presencia de variantes genéticas (mutaciones). Si las plantas obtenidas del semillero básico cumplen con los requisitos de calidad, entonces

podrán ser utilizadas para formar parte de un semillero semicomercial certificado; y el área de cultivo para éste es diez veces mayor que el semillero básico y deben cumplirse los criterios mencionados para pasar a semillero comercial certificado. Este se establece con material proveniente de la plantilla o de la primera soca de un semillero semicomercial certificado. Finalmente la plantación comercial provendrá de la plantilla o soca de un semillero comercial certificado (Figura 3).

CONCLUSIONES

En México, la certificación fitosanitaria de laboratorios dedicados a la micropropagación comercial de plantas no ha sido completamente aprovechada. Un laboratorio certificado permite la producción masiva de plantas libres de plagas, además, estas unidades de producción pueden ser utilizadas para la conservación *in vitro* de germoplasma, programas de mejoramiento genético, biotecnológico e intercambio de variedades con otros países.

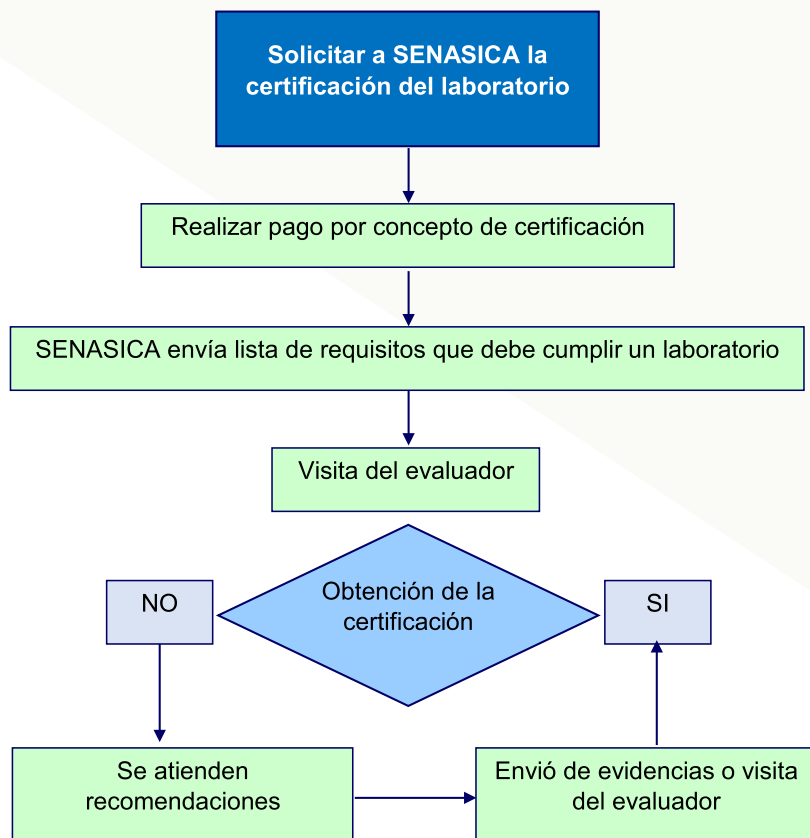


Figura 1. Proceso para obtener la certificación fitosanitaria de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales.

Cuadro 2. Resultados del diagnóstico fitosanitario de dos laboratorios de cultivo de tejidos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.).

Nombre científico	Método de detección	Laboratorio	
		Campus Córdoba	CIDCA
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vasculorum</i>	Aislamiento+ Patogenicidad+ bioquímicas PCR	Negativo	Negativo
<i>Leifsonia xyli</i> ssp. <i>xyli</i>	Aislamiento+ Patogenicidad+ bioquímicas	Negativo	Negativo
<i>Xanthomonas albilineans</i>	Aislamiento+ Patogenicidad+ bioquímicas PCR+ Secuenciación ELISA	Negativo	Negativo
<i>Dickeya chrysanthemi</i>	Aislamiento	Negativo	Negativo
<i>Pantoea stewartii</i>	Aislamiento ELISA	Negativo	Negativo
<i>Ustilago scitaminea</i>	Cámara húmeda-PDA+ Monosporicos+ Esteromicroscopio y compuesto+ claves taxonómicas	Negativo	Negativo
<i>Peronosclerospora sacchari</i>	PDA+ Monosporicos+ Esteromicroscopio y compuesto+ claves taxonómicas	Negativo	Negativo
<i>Sphacelotheca erianthi</i>	PDA+ Monosporicos+ Esteromicroscopio y compuesto+ claves taxonómicas	Negativo	Negativo
<i>Sphacelotheca macrospora</i>	PDA+ Monosporicos+ Esteromicroscopio y compuesto+ claves taxonómicas	Negativo	Negativo
Sugar Cane Streak Virus.	RT-PCR	Negativo	Negativo
Sugarcane Sereh virus	RT-PCR	Negativo	Negativo



Figura 2. A: Micropropagación de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en biorreactores de Inmersión Temporal semiautomatizados. B: Plántulas aclimatadas obtenidas de laboratorios certificados para la producción de material vegetal de caña de azúcar.

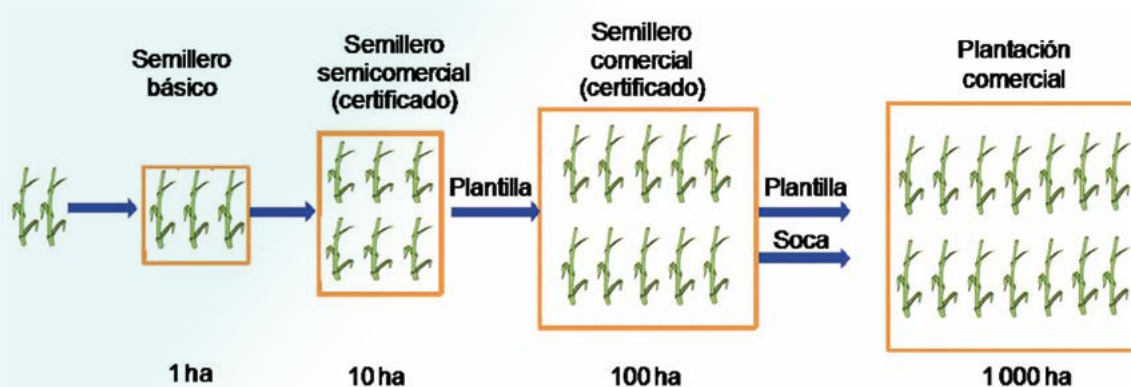


Figura 3. Proceso para establecer y aprovechar los semilleros básicos, semicomerciales y comerciales de caña de azúcar (*Saccharum* spp.).

AGRADECIMIENTOS

Al Comité Técnico Administrativo del CIDCA, A. C. y al Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar (CONADESUCA) por su apoyo y facilidades brindadas.

LITERATURA CITADA

- Caamal-Velázquez J.H., Bello-Bello J.J. 2014. Micropropagación de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). Colegio de Postgraduados. México. 23 p.
- Flores C.S. 2001. Las variedades de caña de azúcar en México. 1ª. Ed ATAM. México. 238 p.
- Lal M., Tiwari A.K., y Gupta G.N. 2015. Commercial Scale Micropropagation of Sugarcane: Constraints and Remedies. Sugar Tech 17: 339-347.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15:473-497.
- Pandey R.N., Rastogi J., Sharma M.L., Singh R.K. 2011. Technologies for cost reduction in sugarcane micropropagation. African Journal of Biotechnology 10: 7814-7819.
- Sawant R.A., Tawar P.N., Meti N.T., Ranjekar P.K. 2014. Role of Sugarcane Micropropagation for Production of Quality Seed. International Journal of Recent Biotechnology 2: 34-41.

