

## LA BIOTECNOLOGIA APLICADA A LA AGRICULTURA EN CUBA

Juan Pérez Ponce<sup>1</sup>

### INTRODUCCION

Durante todo el proceso de mejoramiento que se ha realizado, el rendimiento ha sido la base fundamental y es por eso que actualmente en la gran mayoría de los cultivos existen variedades con altos potenciales de rendimiento; sin embargo, en muchas de estas variedades tales potenciales no se pueden explotar por no poseer resistencia a plagas o enfermedades, o su empleo es limitado por tener poca resistencia a factores ambientales adversos. Es por esta situación que actualmente a nivel mundial el 80% del trabajo que se realiza en mejoramiento genético es encaminado a la mejora de algún tipo de resistencia.

La situación anterior se agrava aún más en los países subdesarrollados en los cuales la mayoría de las variedades en explotación comercial provienen del trabajo de mejoramiento realizado en otros países (los desarrollados, fundamentalmente) y es por esa causa y a la diversidad y agresividad de los patógenos en los países tropicales, que los problemas patológicos sean más graves en las áreas tropicales.

Como ejemplo de esta situación se tiene que en Cuba, todas las variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) que han existido, con excepción de POJ-2878, han sido eliminadas por problemas de resistencia bien sea a virus o a hongos, situación muy similar que tienen otros países productores de caña. Aún actualmente, existen en el cultivo de la caña variedades y clones de muy alto rendimiento en caña y en azúcar, las cuales están proscritas por ser susceptibles a una u otra enfermedad (Virus del Mosaico, *Puccinia melanocephala* y *Ustilago scitaminea*, en el caso de Cuba); otras variedades, a pesar de sus buenas características, tienen limitaciones por presentar otras deficiencias y sólo pueden ser empleadas en ambientes específicos.

La eliminación de los defectos que presentan estas variedades y clones, empleando los métodos tradicionales de mejora por cruzamiento y selección, en el caso de la caña demora de 11 a 13 años, dada la complejidad genética de esta planta (más de 100 cromosomas, altamente poliploide y heterocigótica); el éxito de estos programas hasta la fecha ha sido limitado a pesar de estudiarse poblaciones mayores a un millón de plantas anuales en algunos países.

<sup>1</sup> Profesor-Investigador, Jefe del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Central de las Villas; Santa Clara, Cuba.

Profesor visitante en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Situación aún más difícil presenta el plátano (*Musa x paradisiaca* L.), en el que existen problemas patológicos más graves, como son la "Sigatoka Negra" y el *Fusarium* raza 4, donde los programas de mejora

convencionales, algunos de los cuales tienen 60 años, no han dado resultados de interés y en su mayoría se han abandonado.

Por lo anterior, un reto del mejoramiento es rescatar a corto plazo los clones y variedades de alto rendimiento que existen en muchos cultivares.

### LA VARIACION SOMACLONAL Y EL FITOMEJORAMIENTO

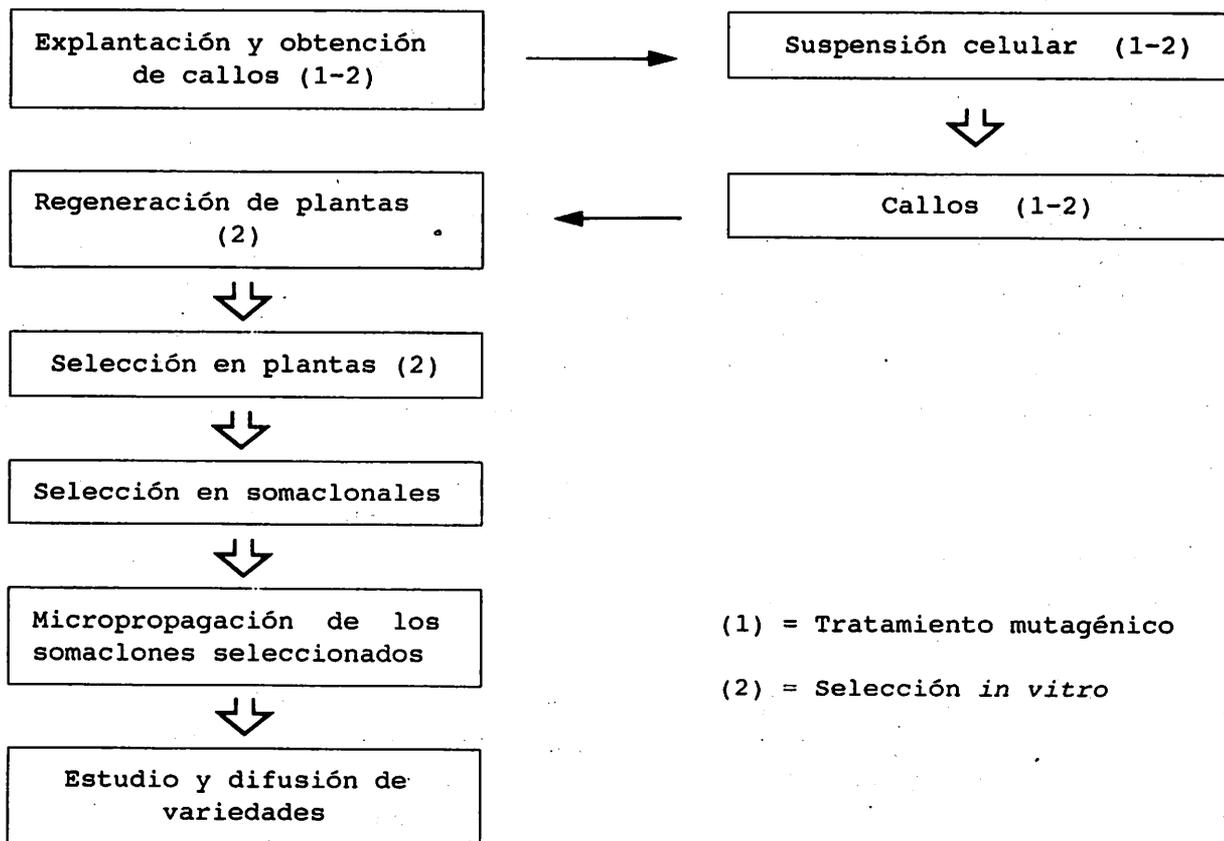
Para lograr el objetivo anterior, la variabilidad somaclonal ofrece grandes perspectivas. A continuación se describen algunas características de la variabilidad somaclonal.

- Las causas de la variabilidad somaclonal son dos: una es la variabilidad preexistente en los tejidos somáticos, la cual sólo puede ser aprovechada por el cultivo *in vitro*, pues en la reproducción sexual se pierde; y la otra causa es la provocada por el cultivo *in vitro per se*.

- La variabilidad somaclonal tiene el mismo tipo de mutaciones que se presentan en las mutaciones espontáneas o inducidas.

- Por lo general se han sobreestimado los valores de la variabilidad somaclonal.

El esquema que se propone para el empleo de la variabilidad somaclonal en el mejoramiento es el siguiente:



## RESULTADOS

### Control de la Floración en Caña de Azúcar

A continuación se presenta un ejemplo del empleo de las técnicas de la biotecnología en la mejora genética de una variedad de caña en Cuba.

Para realizar este trabajo se partió de la variedad CPS 243, la cual posee buenas características agroazucareras y alta resistencia a enfermedades y plagas, pero por presentar hasta 100% de floración su empleo en la producción se limita sólo al 5-8% del área, dado que exige cosecharse antes de que ocurran las pérdidas provocadas por la floración.

Para mejorar esta variedad se procedió a la obtención de callos, los cuales fueron tratados con radiaciones gamma en dosis de 1000, 3000 y 5000 rads cuando estaban en fase de crecimiento. Posterior a la radiación, se pusieron los callos en medios de regeneración conjuntamente con callos que no habían sido irradiados, obteniéndose entre todos los tratamientos 3500 subclones; éstos fueron evaluados, en una primera fase, seleccionando los que presentaban floración entre 0 y 15%, que es el óptimo para la caña de azúcar.

Como la variación somaclonal y los tratamientos mutagénicos pudieron haber cambiado otros caracteres en los subclones, se realizó una comparación de todos los caracteres de interés económico, encontrándose que los subclones que habían disminuido o eliminado la floración y mantenían las buenas características de la variedad original fueron los obtenidos solamente con la variabilidad somaclonal y el tratamiento de 1000 rads.

En los análisis estadísticos empleados, análisis univariado y multivariado, no se encontraron diferencias estadísticas entre los subclones seleccionados y la variedad original, en cuanto a los componentes de rendimiento agrícola e industrial. Estas evaluaciones se realizaron en ambientes específicos donde la variedad original no floreció. Otro comportamiento muy distinto se encontró en ambientes donde la variedad original floreció (lo cual es lo normal); en estas condiciones la variedad original florece deteniendo el crecimiento pues el meristemo pasa de la fase vegetativa a la reproductiva; en cambio, los subclones no florecieron y mantuvieron su crecimiento superando en altura a la variedad original así como en el peso de los tallos, el cual es un componente fundamental del rendimiento en caña.

En el caso del contenido de sacarosa, los valores de los subclones y la variedad original fueron similares, pero después de la floración el contenido de sacarosa en la original disminuyó y se mantuvo el de los subclones. En consecuencia, los subclones seleccionados rindieron de 20 a 40% más azúcar por área que la variedad original.

Este trabajo duró 5 años, desde el inicio de la formación de callos hasta que se hicieron los estudios finales de las variedades, lo cual es menos de la mitad del tiempo que duran los esquemas tradicionales. También el número de plantas manejadas fue mucho menor del que se emplea en los sistemas tradicionales de mejoramiento.

En este caso específico, al eliminar la floración se ha obtenido de forma indirecta una mejora de los componentes del rendimiento agrícola e industrial de la caña de azúcar, comportamiento que lógicamente se debe esperar en otras plantas y caracteres,

como por ejemplo, disminución del porte y del ciclo.

### Resistencia a Enfermedades en Caña de Azúcar

Otro ejemplo del empleo práctico de estas técnicas se tiene en la búsqueda de resistencia a enfermedades en la caña de azúcar.

En el área cañera americana, la variedad B-4362 se conoce como la Reina del Caribe por su alta producción de azúcar, pero por la aparición de la roya ha tenido que ser eliminada de la producción. Han sido varios los laboratorios de biotecnología que han intentado obtener subclones resistentes de esta variedad empleando las técnicas del cultivo *in vitro* sin obtener resultados.

En el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Central de las Villas, se ha obtenido un subclón altamente resistente a la roya, empleando el cultivo de tejidos conjuntamente con la inducción de mutaciones químicas ( $\text{NaN}_3$ ); este subclón presenta cambios en otras características y se está empleando en programas de mejoramiento por retrocruzas con la variedad original. Paralelamente se continúa obteniendo subclones de B-4362 que sean resistentes y presenten características fundamentales de la variedad original, lo cual de seguro se logrará en plazo no muy largo.

En el caso de la resistencia al carbón (*Ustilago scitaminea*), patógeno que actualmente es el más peligroso en los países cañeros del área americana, también la mejora empleando la variabilidad somaclonal ha sido efectiva, pero la selección en las poblaciones provenientes de callos irradiados ha sido más eficaz.

En el esquema donde se emplea el cultivo *in vitro* en el mejoramiento genético, aparece la posibilidad de realizar la selección propiamente *in vitro* que es cuando se expresa la máxima eficiencia de esta técnica biotecnológica. En el caso del carbón de la caña y trabajando en callos, suspensiones celulares y tejido producido en presencia de la fitotoxina del hongo, se ha comprobado que a nivel de células se manifiestan los genes de la resistencia, lo cual ha permitido desarrollar un sistema de selección *in vitro* muy eficaz.

Con los ejemplos anteriormente expuestos se demuestra fehacientemente que las técnicas de cultivo *in vitro* son apropiadas para aprovechar la variabilidad somaclonal sola o aumentada con tratamientos mutagénicos y poder rescatar variedades de alto potencial de rendimiento pero que presentan deficiencias en algún carácter.

### Micropropagación

Las técnicas de la micropropagación *in vitro* han tenido un gran desarrollo en los últimos años debido a su gran repercusión en la producción.

Esta técnica es apropiada para producir semilla agámica de las nuevas variedades obtenidas por cualquier método. Como ejemplo se tiene el trabajo que se realizó para introducir rápidamente en la producción los subclones sin floración de CP-5243. Para esto se desarrolló el método de la micropropagación *in vitro* de estos subclones, lográndose obtener en menos de seis meses la cantidad necesaria de semilla. Si se hubiera desarrollado la multiplicación de semilla por los métodos tradicionales, se hubiera demorado más de tres años la introducción de estos subclones en la producción.

La micropropagación *in vitro* también se efectúa para sanear y producir semilla agámica de alta calidad de las variedades que ya existen en la producción. Esto se realizó en variedades comerciales de caña y la comparación entre las poblaciones obtenidas por la micropropagación y por los métodos convencionales de campo, demostraron que las primeras presentaron 30% más de tallos que los provenientes del método tradicional. Estas diferencias se deben al saneamiento y rejuvenecimiento que produce el cultivo *in vitro*.

En el caso del plátano, el coeficiente de multiplicación es muy bajo y son muchas las plagas y enfermedades que se transmiten por los materiales de propagación convencional, por lo cual se ha desarrollado la técnica de micropropagación *in vitro* resolviendo así esos problemas.

### CONCLUSIONES

Con los ejemplos presentados, se demuestra las ventajas de las técnicas biotecnológicas para rescatar variedades y producir materiales de plantación, quedando claro que la variabilidad somaclonal puede dar resultados muy buenos a corto plazo y sin grandes inversiones. En los momentos que se encuentra actualmente el conocimiento científico y la base material para el desarrollo de éste, se debe ponderar qué es más conveniente, si trabajar con la variabilidad somaclonal empírica o trabajar con la ingeniería genética, ambas dirigidas a los objetivos propuestos. Si se razona lógicamente y biológicamente, se verá que ambos métodos tienen sus ventajas y desventajas y para objetivos específicos debe emplearse uno u otro.

Debe quedar claro que estos métodos actualmente no pueden sustituir los métodos

clásicos de cruzamientos en los cuales ocurre la combinación y recombinación de los genes, lo cual es la base de la evolución.

### DISCUSION

**Ing. Luis Pérez M., Escuela de Agricultura y Zootecnia de la Universidad de Guanajuato**

Pregunta:

¿Cómo separa las células sanas de las enfermas en el trozo de hoja enferma de caña de azúcar con carbón?

Respuesta:

Las células que fueron afectadas por el patógeno pierden su capacidad de transmitir su información, o sea, no forman callos; esto es, las células enfermas han perdido su totipotencia.

Pregunta:

Con este método se tendrían sólo plantas con resistencia vertical y esto provocaría la expansión rápida de numerosas razas fisiológicas del patógeno.

Respuesta:

Se está trabajando con una variedad que es resistente a una raza cada vez, se continúa haciendo selección *in vitro* a las distintas razas fisiológicas e ir aumentando la resistencia a varias razas. Esto es, usar la técnica de la genética microbiana en las plantas superiores, o sea que es posible trabajar con más de una raza fisiológica si ésta se tiene caracterizada.

**Dr. Rubén Sosa Chávez, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares**

**Pregunta:**

¿Existe correlación entre formación de callo y quimerismo?, ¿La propagación masal produce mutaciones somaclonales?

**Respuesta:**

Cuando se forma callo cabe la posibilidad de que la planta se forme a partir de más de una célula, pero si una de ellas tiene quimerismo éste podrá existir. En suspensiones celulares, el protoplasto se aísla y la planta se forma a partir de una sola célula lo que reduce la posibilidad del quimerismo pero no totalmente.

En cuanto a la segunda pregunta, cuando se utilizan las yemas axilares, la variación somaclonal no ha sido un problema que limite la micropropagación, por ejemplo en papa (*Solanum tuberosum* L.), donde toda la semilla que se obtiene para siembra de esta especie en Cuba es por este medio.

Un problema puede ser las yemas adventicias en plátano donde una yema se forma de otra yema más; aquí, al variar el medio de cultivo se está obligando a la especie a formar algo que normalmente no forma, por lo que se ha planteado que en otras especies las yemas adventicias pueden aparecer en la micropropagación. En Taiwán, el Dr. Man ha desarrollado formas resistentes al *Fusarium* debido a la variación somaclonal. Para evitar la variación somaclonal en micropropagación se usan yemas axilares las cuales existen en forma normal, pero aún así es posible que pueda haber cierta variación.

Por último, yo diría que son tantas las ventajas que ofrece la micropropagación *in vitro* que todos los países están interesados a pesar de la posibilidad de la variación somaclonal.

**Ing. Jesús Salas Hernández, Universidad Autónoma Chapingo**

**Pregunta:**

¿Qué es lo que se guarda como germoplasma en el caso de la caña? ¿Es semilla o porciones de tallo?

**Respuesta:**

Se conserva simple tallo; como se mencionó, la caña es altamente heterocigótica y complicada por lo que la semilla botánica no puede mantener la identidad genética. En Cuba no se guarda este tipo de semilla, se conserva como ya se mencionó *in vitro*.

**Pregunta:**

Se sabe que en los Estados Unidos se ha empezado a producir azúcar artificialmente, lo cual reduciría la demanda de este producto. ¿Qué se ha hecho al respecto, o que se piensa hacer en Cuba, donde existe una gran superficie sembrada con este cultivo?

**Respuesta:**

La caña es una planta eficiente y está catalogada como la planta del futuro y aunque no se siembre para azúcar la planta es buena. La política en Cuba es que bajo ningún concepto se reduzcan las hectáreas de caña de azúcar, al contrario deben de incrementarse. Paralelamente se está utilizando el

azúcar en la industria química, hay muchos productos químicos ya; se está produciendo desde hace veinte años un concentrado de proteína que es el Bitocloito: Alemania y Bélgica están utilizándolo. Del gabazo se saca papel, se utiliza para alimentar el ganado, esto es, la caña es una planta productora de energía como ninguna otra.

**Ing. Marcelino Ponce Herrera**

Pregunta:

Como usted sabe, hasta ahora el cultivo *in vitro* ha mostrado su bondad en plantas donde el producto final es una flor o un fruto sin semilla, ¿qué puede pasar, funcionará el método en plantas donde el producto debe ser una semilla? ¿La aneuploidia no será ó representará una barrera para la producción de semilla?

Respuesta:

Debe usarse un sistema en el cual el producto se mantenga estable. Fundamentalmente la micropropagación se usa en especies con multiplicación vegetativa donde el problema fundamental son las enfermedades, particularmente la transmisión de virus; sin embargo, hay virus que se transmiten por la semilla y en este caso se ha usado también la micropropagación *in vitro*.

**Ing. Felipe Pineda E. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo**

Pregunta:

Algunas especies durante la propagación masiva presentan problemas de vitrificación. ¿Esto se presenta en caña? ¿Sabe cómo evitarlo?

Respuesta:

El medio de cultivo no es el mismo para todas las variedades ni tampoco durante todo el proceso de regeneración. Hay situaciones donde se dan cambios epigenéticos: genes que antes no funcionaban y ahora empiezan a funcionar y empiezan a producir fundamentalmente citocininas. Entonces hay que ir quitando citocininas del medio, o sea que el balance en el medio de auxinas-citocininas no debe ser menor en la caña y el plátano. La siembra de un explante o un callo debe hacerse previo a un balance hasta que se tengan de 2000 a 5000 ppm en los niveles de auxinas-citocininas. La forma en que se maneja el cultivo *in vitro* para micropropagación es variando los niveles de auxinas-citocininas: pueden hacerse cinco o seis pases y ya, volvemos a nuestro origen, pero si se cultivó todo bajo el mismo nivel, al cabo de 4 ó 5 pases se tienen yemas adventicias.

**Ing. José Alfredo Andrade Aguilar, Centro Regional de Zonas Áridas, Colegio de Postgraduados**

Pregunta:

Se ha considerado que la variación somaclonal es muy importante en la producción de material útil en algunas plantas. También se proponen Bancos de Germoplasma *in vitro* para algunas plantas de reproducción asexual donde se requiere la conservación original de la variabilidad genética. ¿Cuál es su punto de vista en estos dos aspectos?

Respuesta:

Los Bancos de Germoplasma *in vitro* pueden ser más baratos y seguros; por ejemplo, hay plantas que pueden perder su

capacidad de crecimiento ambiental y sólo pueden crecer *in vitro*; pero también hay que considerar que se puede utilizar el alto coeficiente de multiplicación partiendo de cuatro, cinco ó diez plantitas en un ensayo mínimo ó bien se puede ir al callo para

buscar variación somaclonal ó reforzarla con agentes mutagénicos, esto es, la técnica puede utilizar la variación somaclonal ó la micropropagación, todo está en cómo se maneje el medio de cultivo.