

**CERTIFICACIÓN FITOSANITARIA DE PLÁNTULAS DE CAÑA DE AZÚCAR  
(*Saccharum spp.*) OBTENIDAS A PARTIR DE TÉCNICAS DE CULTIVO DE TEJIDOS  
VEGETALES**

**PHYTOSANITARY CERTIFICATION OF SUGARCANE PLANTS (*Saccharum spp.*)  
PROPAGATED THROUGH PLANT TISSUE CULTURE TECHNIQUES**

Bello-Bello Jericó Jabín<sup>\*1</sup>, Gómez-Merino Fernando<sup>1</sup>, Morales-Ramos Victorino<sup>1</sup>, Caamal-  
Velázquez Humberto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba Veracruz, km 348. C.P. 94946,  
Amatlán de los Reyes, Veracruz.

<sup>2</sup>Colegio de postgraduados Campus Campeche. Carretera Haultunchén-Edzná km 17.5 C. P. 24450,  
Champotón, Campeche.

\*Email: jericobello@gmail.com

**Resumen**

El saneamiento y propagación *in vitro* de caña de azúcar son importantes para la obtención de semilleros certificados, capaces de proveer plantas libres de patógenos, genéticamente homogéneas y vigorizadas. El objetivo de este trabajo fue certificar el proceso de producción *in vitro* de plántulas de caña de azúcar utilizando técnicas de Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV) en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, para el establecimiento de semilleros certificados. Se utilizaron ápices como explantes y fueron sometidos a termohidroterapia (50 °C durante 10 min). Posteriormente, los meristemos fueron extraídos bajo condiciones asépticas y cultivados en medio de multiplicación MS (Murashige y Skoog) semisólido suplementado con 1 mg L<sup>-1</sup> de kinetina, 0.65 mg L<sup>-1</sup> de ácido indolacético y 0.3 mg L<sup>-1</sup> de benciladenina. Después de tres subcultivos, se tomaron muestras de material vegetal y fueron enviadas al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF, orden de servicio: 56677) para su diagnóstico fitosanitario. De acuerdo al informe del CNRF y con fundamento en los artículos 1,2, 6 y 19 Fracción I inciso a), de la Ley Federal de Sanidad Vegetal y Artículo 49 Fracción XXXV del Reglamento Interior de la SAGARPA, el diagnóstico resultó NEGATIVO para las principales enfermedades de caña de azúcar. Finalmente, los brotes fueron transferidos al mismo medio sin agente gelificante utilizando Biorreactores de Inmersión por Gravedad (BIG) para su multiplicación a gran escala. A la fecha, el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Campus Córdoba es el primero a nivel nacional que cuenta con los requisitos fitosanitarios para la certificación de los métodos empleados en cultivo *in vitro* de caña de azúcar reportados ante el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).

**Palabras clave:** Sanidad vegetal, *Saccharum spp.*, vitroplantas.

## Abstract

Sanitation and *in vitro* propagation of sugarcane are important for obtaining certified seed capable of producing pathogens-free, genetically homogeneous and invigorated plants. The objective of this study was to certify the process of *in vitro* production of sugarcane seedlings using Plant Tissue Culture (PTC) techniques at Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Sugarcane apices were used as explants and subjected to hydrothermal therapy (50°C for 20 min). Subsequently, meristems were removed under aseptic conditions and cultured in MS (Murashige and Skoog) semisolid multiplication medium supplemented with 1 mg L<sup>-1</sup> kinetin, 0.6 mg L<sup>-1</sup> indoloacetic acid and 0.3 mg L<sup>-1</sup> benzyladenine. After three subcultures, plant samples were taken and sent to the Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF, service order: 56677) for phytosanitary diagnosis. According to the report of CNRF and based on Articles 1, 2, 6 and 19 Fraction I, paragraph a) of the Federal Plant Protection Act and Article 49 fraction XXXV of the Internal Regulations of SAGARPA, the diagnosis was NEGATIVE for major diseases of sugarcane. Finally, the shoots were transferred to the same medium without gelling agent using Gravity Immersion Bioreactors (BIG) for large-scale multiplication. To date, Campus Córdoba's Plant Tissue Culture Laboratory is the first nationwide laboratory that has the phytosanitary requirements for certification of methods used in *in vitro* culture of sugarcane reported to the National Service of Health, Food Safety and Quality (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)).

**Key words:** Plant sanitation, *Saccharum* spp., vitroplants.

## INTRODUCCIÓN

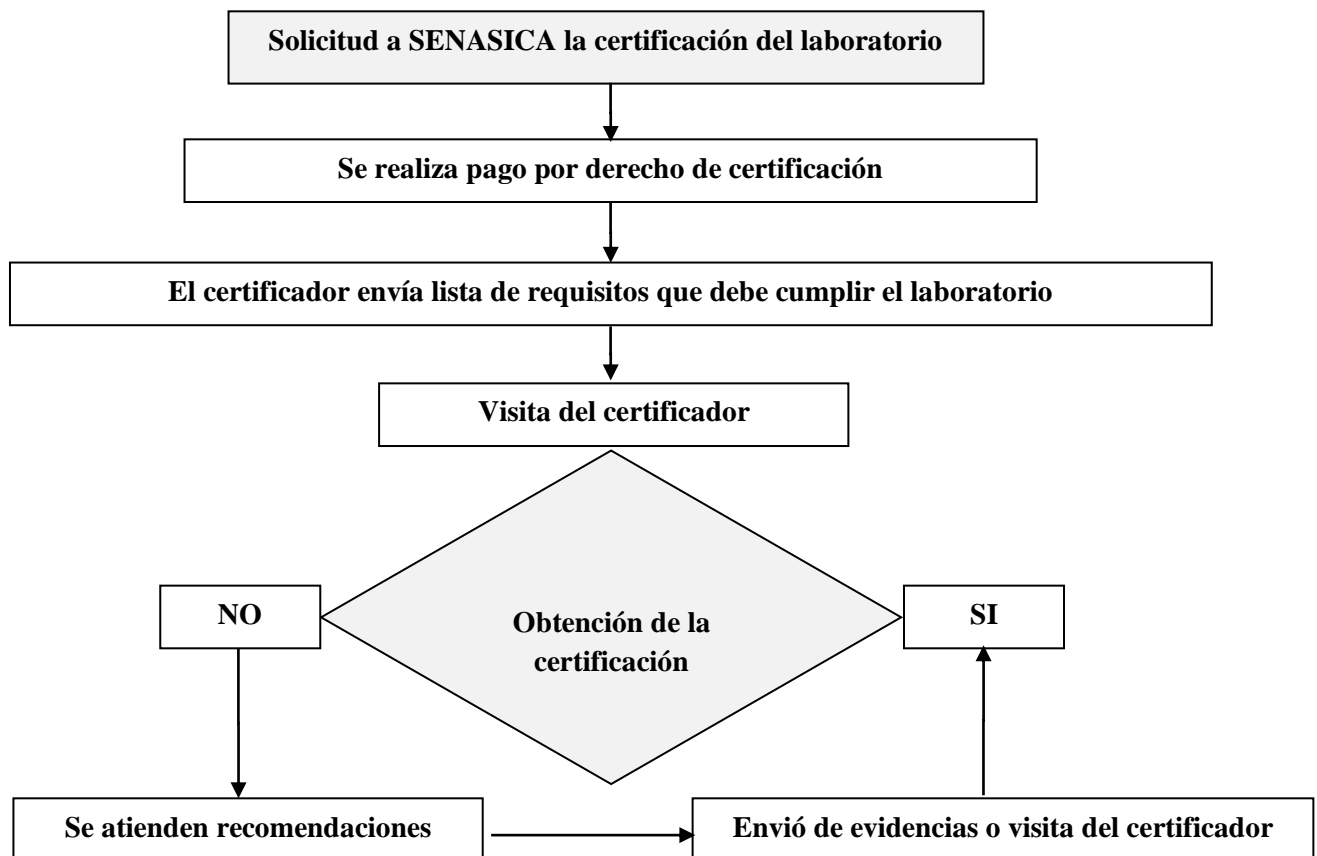
En México, la producción de caña de azúcar se caracteriza por su bajo rendimiento debido, entre otras causas, a la prácticamente nula renovación de plantaciones por la falta de material vegetativo certificado, que se encuentre libre de patógenos, genéticamente homogéneo y vigorizado. Una de las alternativas más utilizada para el saneamiento y rejuvenecimiento de esta especie es mediante el cultivo de tejidos vegetales (CTV). El CTV consiste en una serie de técnicas que permiten el saneamiento y micropropagación o clonación *in vitro* de plantas de plantas bajo condiciones artificiales, asépticas y controladas de laboratorio. De acuerdo a Pérez *et al.*, (2000), como resultado del efecto combinado del saneamiento y el rejuvenecimiento *in vitro* se demostró experimentalmente que se incrementaron los rendimientos en azúcar por área entre el 10 al 15%.

Para asegurar la eliminación de virus, hongos y bacterias en el CTV, puede combinarse algún tipo de quimioterapia y termoterapia. Esta última consiste en incubar la planta completa o fragmentos de ella a altas temperaturas antes de aislar el meristemo. Una vez obtenidas las plantas mediante el o los procesos anteriores, éstas deben analizarse mediante métodos serológicos o moleculares para confirmar la ausencia de patógenos específicos de acuerdo a las normas sanitarias. En nuestro país, la certificación sanitaria de material propagativo es emitida por la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). En este sentido, la DGSV determina los requisitos necesarios para la certificación fitosanitaria relacionada al cultivo *in vitro* de plantas cuyo fundamento legal se determina con base en la Ley Federal de Sanidad Vegetal en el Artículo 7 fracción XIII, XIX y XXI; 19 Fracción I incisos f, g, h, k y las Normas Oficiales Fitosanitarias NOM-016-FITO-1995 y NOM- 036-FITO-1995.

El objetivo de este trabajo fue obtener la certificación fitosanitaria de plántulas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) obtenidas a partir de técnicas de CTV en el Laboratorio de Cultivos Vegetales del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El Colegio de Postgraduados (COLPOS) Campus Córdoba solicitó ante SENASICA la certificación del Laboratorio de CTV para la obtención de plantas certificadas. Para ello, se inició un proceso de autorización fitosanitaria ante la DGSV para el cultivo *in vitro* de material vegetal propagativo. La DGSV emitió una serie de requisitos que debía cumplir el Laboratorio para su certificación. Se presentó una evidencia documental y presencial de todos los requisitos. En su primera visita, el evaluador Ing. Domingo Colmenares Aragón (jefe del Departamento de Cuarentena y Saneamiento) del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, evaluó el Laboratorio y emitió una lista de sugerencias y recomendaciones para obtener la certificación de éste. En la figura 1 se muestra el proceso que se siguió para la certificación de Laboratorio.



**Figura 1.** Proceso para la certificación fitosanitaria de un laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales ante la Dirección General de Sanidad Vegetal para producción *in vitro* de plántulas.

Para el sistema de regeneración de plantas se utilizó la metodología propuesta por Lorenzo *et al.* (1998; 2001). Una vez obtenidas plantas *in vitro*, se realizó la toma de una muestra compuesta de material vegetal *in vitro* para su diagnóstico fitosanitario. Posteriormente la muestra fue enviada a la Estación Nacional de Epidemiología, Cuarentena y Saneamiento Vegetal ubicada en la Ciudad El Marqués, estado de Querétaro, México. Se llevaron a cabo pruebas de PRC (Reacción en Cadena de la Polimerasa) para la determinación de presencia o ausencia de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vasculorum* y *Xanthomonas albilineans*. Por otro lado, se realizó pruebas de AISLAMIENTO + PATOGENICIDAD + BIOQUÍMICAS para la determinación de *Xanthomonas albilineans*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vasculorum* y bacterias fitopatógenas. Las pruebas de RT (Trascriptasa Reversa)-PRC fueron necesarias para la determinación del virus SSV (Sugarcane Streak Virus), y el orden de servicio para todas las pruebas fue 5667.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las sugerencias y recomendaciones emitidas por el evaluador fueron atendidas satisfactoriamente. De acuerdo al Informe de Resultados emitido por la Estación Nacional de Epidemiología, las pruebas realizadas al material vegetal para el diagnóstico fitosanitario resultaron negativas a las enfermedades evaluadas. A la fecha, el Laboratorio de CTV del COLPOS Campus Córdoba es el primero en México que cuenta con la certificación fitosanitaria para la producción de vitroplántulas de caña de azúcar otorgada por el SENASICA (certificado No. 01/COLPOS/2014).

## **CONCLUSIÓN**

El CTV es una herramienta que permite el saneamiento y propagación *in vitro* de plantas y puede llegar a ser útil en la certificación de material propagativo de caña de azúcar.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba por financiar los requisitos para el logro de la certificación del Laboratorio de CTV.

## **LITERATURA CITADA**

- Lorenzo J.C, Ojeda E., Espinosa A., and Borroto C. (2001). Field Performance of Temporary Immersion Bioreactor-Derived sugarcane plants. *In vitro Cell Dev. Biol.* 37: 803-806.
- Lorenzo J.C., Gonzalez B.L., Escalona M., Teisson C., Espinosa P., and Borroto C. (1998). Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion temporary immersion system. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 54: 197-200.
- Pérez P.J.N., Suárez C.M. y Orellana P.P. (2000). Posibilidades y potencial de la propagación masiva de plantas en Cuba. *Biología Vegetal.* 1: 3-12.