

CULTIVO *in vitro* DE *Saccharum officinarum* L. II. EFECTO DE LA ESPECIALIZACION SOBRE LA REDIFERENCIACION¹ /

G. CARRILLO-CASTAÑEDA*, M. VARGAS*, M. VARGAS-VILLANUEVA*

Summary

Using tissues from the stem and young embryonic leaves adjacent to the apical meristem of S. officinarum L. cv. ZMéx 55-32, it was observed that such tissues could generate (on MS2 culture medium) dedifferentiated cell cultures; the degree of specialization of these tissues clearly defined their position in the plant. The acropetal inter-nodal dedifferentiation gradients found were 90% , 52% , 40% , 8% , and 5% for internodes -1, 0, 1, 2 and 3, respectively.

The basipetal intra-nodal gradients of internodes one and two differed, in one, all the internodes showed activity from 88% to 33%, but in two only the basal tissue generated dedifferentiated cell cultures (25%).

Histological studies performed showed that the less specialized tissue seems to consist of small, highly metabolically active cells with some small vacuoles (virtually all spaces in the cytoplasm contained free ribosomes).

On the other hand, the highly differentiated cells were bigger, with a thicker cell wall and contained a large central vacuole. The dedifferentiated cell cultures gradually lost its potential for differentiation after 380 days of culture, and the ultrastructural pattern was also similar to the one observed in the stem tissue.

Introducción

La planta de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), por su alta eficiencia de fijación de carbono, es una fuente energética potencial. En muchos países, el azúcar es el principal producto agrícola. A partir de este cultivo, a nivel mundial, la producción de azúcar estimada para el ciclo 1984-85 es de 61.1 millones de toneladas métricas (12). Debido a la necesidad de lograr una utilización integral de este cultivo, se está investigando el uso de sus derivados como materia prima para la elaboración de ciertos productos, que, tradicionalmente, se obtienen de otras fuentes tales como: producción de energía eléctrica (12); etanol para motores automotrices (15); aditivos (16); levadura, proteína celular, sol-

ventes, ácidos orgánicos, detergentes, goma zántica, ésteres y poliésteres de sacarosa (5). La diversidad de posibles usos promoverá la obtención de cultivares con características más específicas (30). Nickell (20, 21), en 1961, inició en Hawaii los trabajos de investigación con esta especie, utilizando la metodología de cultivo de tejidos; esta técnica actualmente complementa al sistema tradicional de selección; permite manipular genéticamente los materiales aptos para seleccionar, a partir de poblaciones celulares con el propósito de obtener cultivares con características fenotípicas deseadas. En México se ha estudiado la micropropagación de los cultivares de mayor explotación (3, 4, 23), utilizando el patrón de producción de compuestos fenólicos en cultivos celulares desdiferenciados de *S. officinarum*, en respuesta a la presencia de microorganismos fitopatógenos (24). Con la finalidad de determinar el grado de uniformidad que presentan las plantas generadas *in vitro*, se han hecho evaluaciones en campo y en fábrica (34), entre otras investigaciones. Es conocido el hecho de que no todos los tejidos de los órganos

¹ Recibido para publicación el 5 de enero de 1985

* Centro de Genética, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México 56230 D F

de la planta (tallo, hoja o raíz) son igualmente aptos para el establecimiento de cultivos celulares (22). El grado de especialización de la célula, como parte de un tejido en la planta o de un cultivo celular indiferenciado afecta tanto la potencialidad como el patrón de rediferenciación (1, 17, 22). El informe de Liu y Chen (13) sobre el origen y desarrollo de plántulas a partir de callos de caña de azúcar, muestra que el inicio de la diferenciación comienza al formarse zonas de células pequeñas, isodiamétricas y con núcleos más teñidos que, posteriormente, se desarrollarán en estructuras semejantes al ápice vegetativo. Se conoce que los clones de *S. officinarum* presentan tallos formados por una sucesión alterna de nudos y entrenudos y en cada nudo se inserta una hoja y una yema con un arreglo alterno y opuesto (28). Estudios anatómicos señalan que el tallo es meristémico con desarrollo acrópeto, en tanto que los entrenudos se diferencian de manera basípeta, debido a que la cantidad de agua, glucosa y nitrógeno decrece de la punta a la base del tallo, mientras que el contenido de sacarosa y minerales aumenta en el mismo sentido (2, 6).

El presente trabajo se realizó con el propósito de conocer cómo se manifiesta la potencialidad de los tejidos de los entrenudos de la región apical del tallo para generar cultivos celulares y cuál es la histología y ultraestructura de éstos, a lo largo del proceso de especialización *in situ* e *in vitro*.

Materiales y métodos

Material biológico. La especie utilizada para el desarrollo de este trabajo fue *Saccharum officinarum* L. cv ZMéx 55-32. Plantas en ciclo de plantilla de ocho a 10 meses fueron obtenidas del Campo Agrícola Experimental de Zacatepec, Morelos, del Centro de Investigaciones Agrícolas de la Mesa Central, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, México.

Medios de cultivo utilizados. El medio de cultivo MS2 contiene las sales inorgánicas del medio de Murashige y Skoog (19) suplementado con: m-inositol, 100 mg/l; tiamina, 1 mg/l; ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 3 mg/l; 18% v/v de agua de coco; sacarosa, 30 g/l y 7.5 g/l de agar. El medio MS11 contiene lo mismo que el MS2, a excepción del 2,4-D. 10 mm de medio se colocaron en frascos de vidrio de 30 ml de capacidad con tapa de rosca y se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a 1.05 kg/cm².

Establecimiento y mantenimiento de los cultivos *in vitro*. De la región apical del tallo de 45 plantas se separó el fragmento que comprende desde el entrenudo 4 al -1 y un segmento del huso foliar de aproxi-

madamente dos cm de longitud (33). Después de desinfectar este material durante 30 minutos en una solución acuosa de hipoclorito de calcio al 3% p/v se cortaron varias rodajas del segmento del huso foliar contiguo al meristemo apical y rodajas de tallo, todas ellas de aproximadamente tres mm de espesor. Con la finalidad de uniformar el tamaño del explante, rodajas enteras, mitades o cuartos fueron sembradas en el medio MS2.

El material se incubó a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ con luz incidente de $100 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, transplantándose cada 25 días en el medio MS2 fresco. Para inducir la diferenciación a partir de células desdiferenciadas, el trasplante se hizo al medio MS11.

Métodos de observación microscópica. Los tejidos obtenidos fueron fijados *in situ* con glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfatos 0.2 M y pH 7.2, a una temperatura de 4°C (26). Después, las muestras fueron postfijadas con tetraóxido de osmio. Muestras fueron postfijadas con tetraóxido de osmio al 1%, luego fueron deshidratadas gradualmente con mezclas de alcohol-agua, iniciando con alcohol de 50% y finalizando con absoluto. Los tejidos se incluyeron en Epón 812 (14).

Los cortes de un μm de grosor fueron teñidos con azul de toluidina (31), observados y fotografiados en un fotomicroscopio Zeiss. Los cortes finos de 45 a 60 nm se montaron en rejillas con membranas de formvar (7), se contrastaron con acetato de uranilo (25) y citrato de plomo (32). Las observaciones y toma de micrografías se realizaron en un microscopio electrónico de transmisión JEOL-100B.

Resultados y discusión

Al analizar la potencialidad del tejido de la región apical del tallo para establecer cultivos celulares desdiferenciados en el medio MS2, se encontró que el de hoja y del tallo (entrenudo -1) tuvieron los mayores porcentajes, 82 y 90% respectivamente. Los resultados se muestran en el Cuadro 1 y corresponden a observaciones realizadas en cultivos de 25 días de incubación. Ojeda (22), utilizando las variedades de caña B43-62 y CP44-101, demostró que los segmentos de tejido de tallo de los entrenudos 9, 10 y 11 al ser cultivados en el medio MS2 no tuvieron ningún desarrollo. Sin embargo, Krishnamurthi y Tlaskal (11) utilizaron tejido de los entrenudos cinco y seis con éxito. La variación en estos resultados puede ser debida al grado de juvenilidad de la planta, época de cosecha del espécimen o por su fenotipo. Lo que se pretendió determinar aquí es el gradiente intermodal que se establece, a nivel del tallo, y que abarcó del entrenudo -1 al 3. Los resultados eran de esperarse dado el desarrollo acrópeto de esta planta.

Cuadro 1. Determinación de la potencialidad de los tejidos de hoja y tallo de *S. officinarum* L. cv ZMéx 55-32 para establecer cultivos celulares en el medio MS2. Las observaciones se realizaron a los 25 días de incubación.

	Origen del explante					
	hoja	entrenado				
		-1	0	1	2	3
Proporción de explantes que generaron callosidades (%)	82	90	52	40	8	5

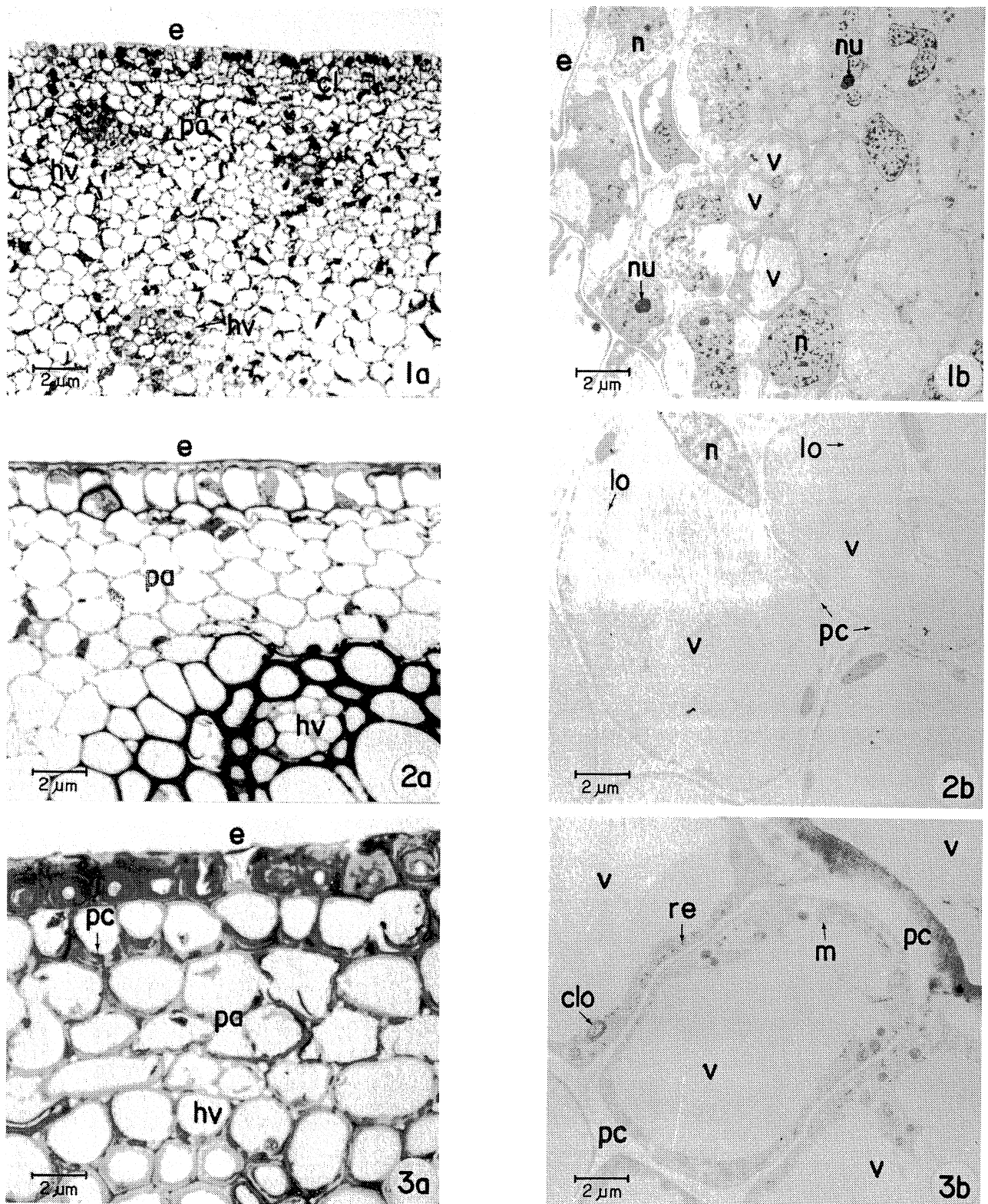
Posteriormente se estimó la potencialidad del tejido intranodal de los entrenados uno y dos para establecer cultivos celulares desdiferenciados. De cada entrenado se hicieron rodajas las cuales se numeraron en forma progresiva, comenzando en la base de cada entrenado. Los resultados se muestran en el Cuadro 2 y puede apreciarse que dicha potencialidad se manifestó en mayor grado en el tejido de la base del entrenado 1, disminuyendo gradualmente en las rodajas de niveles superiores desarrollando callos el 50% de los explantes. En el entrenado 2 no se observó un cambio gradual ya que únicamente el tejido de la base del entrenado mantuvo esta potencialidad y solamente 3% de los explantes desarrollaron callos. El análisis realizado muestra con cierta precisión que el gradiente de diferenciación intranodal es en sentido contrario al internodal definido por la forma como se manifiesta esta potencialidad en los entrenados estudiados, en que se relaciona la capacidad de desarrollo celular *in vitro* con el grado de diferenciación *in vivo*.

Se ha demostrado que los cultivos de células desdiferenciadas con el transcurso del tiempo pierden la capacidad de rediferenciarse. Méndez (17) determinó que el 51% de los cultivos de *S. officinarum* ZMéx55-32 mantenidos en este estado desdiferenciado durante 120 días, rediferenciaron plantas cuando se cambiaron del medio MS2 al MS11 porcentaje que cayó a 23% cuando el estadio de desdiferenciación de los cultivos se prolongó a 300 días. Tomando en cuenta esta información, se realizó un estudio comparativo de la histología y la ultraestructura del tejido de tallo, entrenados -1, 1 y 3, y de cultivos celulares desdiferenciados de 39, 120, 380 días, en pleno proceso de diferenciación. Los resultados muestran que los tejidos a consecuencia del proceso progresivo hacia un estado más maduro sufren cambios histológicos notables. En el tejido del entrenado -1 en las células internas que rodean a los primordios de los haces vasculares, un gran vacuólo desplaza al núcleo hacia la periferia y las cinco o seis hileras de células por debajo de la epidermis son pequeñas y aparentemente se muestran intensamente activas desde un punto de vista metabólico (Fig. 1a) dado que están densamente pobladas de orgánulos y membranas, siendo los nucléolos prominentes (Fig. 1b). La pared de las células de la epidermis en el entrenado 1 adquiere mayor espesor (Fig. 2a), siendo el tamaño y morfología de todas las células similares (Fig. 2b). En un estado avanzado de diferenciación las células de la capa externa del entrenado 3 (Fig. 3a) han engrosado periclinalmente su pared y los mitocondrios y cloroplastos se encuentran periféricamente (Fig. 3b).

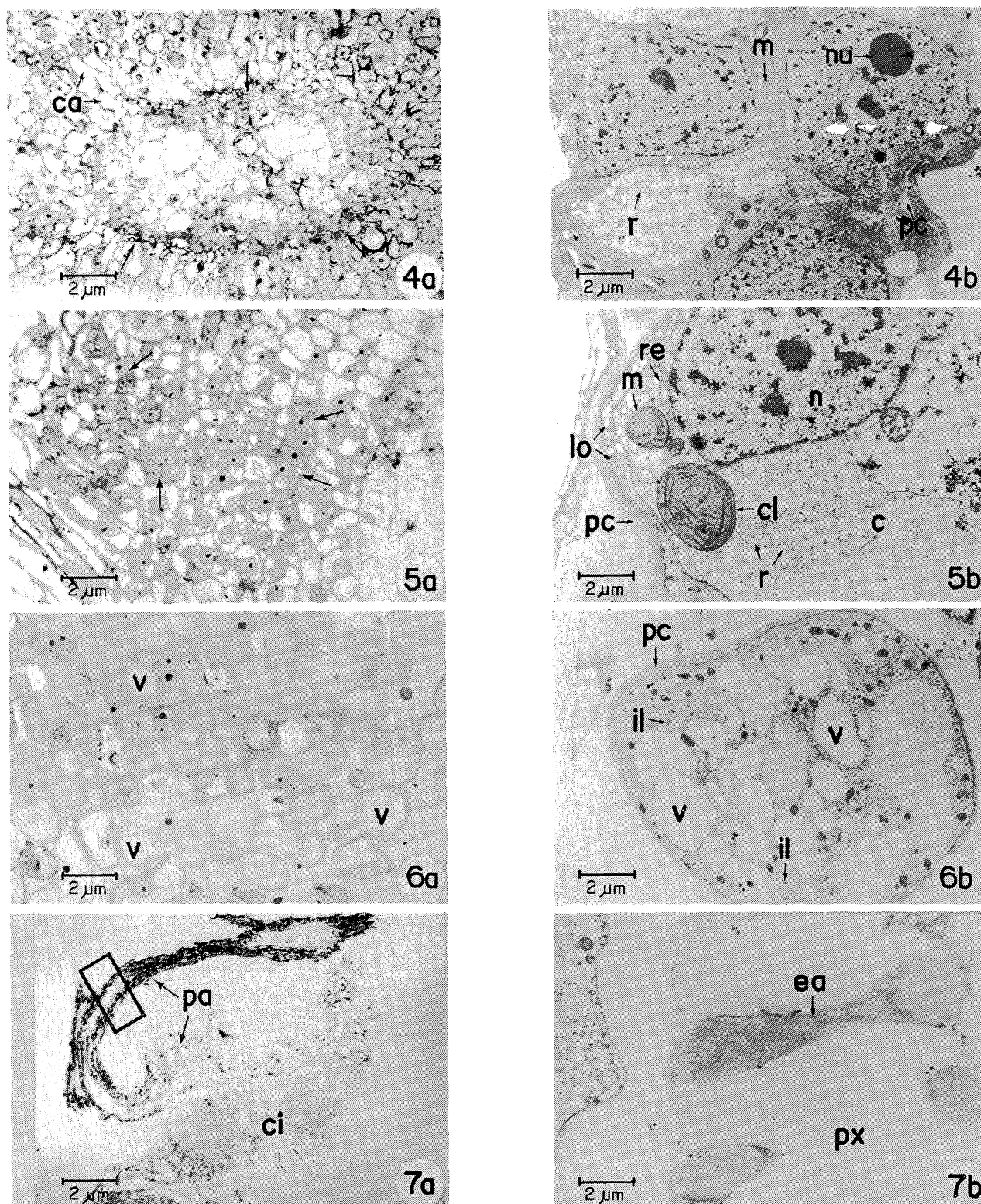
Los cultivos celulares muestran las siguientes características a lo largo del proceso de especialización para subsistir en el nuevo medio: la célula en los cultivos recién establecidos, de 39 días de incubación, es grande, o pequeña en zonas donde existe cierta orga-

Cuadro 2. Determinación de la capacidad para generar cultivos celulares desdiferenciados en el medio MS2, del tejido de los entrenados uno y dos del cultivar ZMéx 55-32, después de 25 días de incubación a 26 ± 2°C.

Segmento	Número de explantes y porcentaje de los explantes que generaron cultivos celulares del entrenado			
	Entrenado 1		Entrenado 2	
1	17	(88)	20	(25)
2	20	(65)	21	(5)
3	22	(54)	21	(0)
4	18	(39)	21	(0)
5	21	(38)	21	(0)
6	22	(36)	21	(0)
7	20	(35)	21	(0)
8	16	(43)	21	(0)
9	14	(35)	20	(0)
10	3	(33)	20	(0)
11			10	(0)
12			10	(0)



Figs. 1- Cortes transversales de tejido de entrenudos. Fig. 1a Nótese en la panorámica del entrenudo -1 que debajo de la epidermis el número de hileras de células del clorénquima es variable y las células del parénquima poseen una gran vacuola. Fig. 1b Micrografía electrónica de las células clorénquimatosas donde se aprecia la vacuolización del citoplasma y los nucleolos prominentes. Fig. 2a En el entrenudo 1 las células de la epidermis han engrasado su cutícula y las capas subyacentes a éstas son similares a las células del parénquima. Fig. 2b Micrografía electrónica de las células parenquimatosas donde se aprecia que gran parte del citoplasma es ocupado por una vacuola que desplaza al núcleo hacia la periferia. Fig. 3a En el entrenudo 3 las células subepidérmicas han engrasado su pared periclinal. Fig. 3b Micrografía electrónica donde se observan los organelos desplazados hacia la periferia en las células parenquimatosas. e, epidermis; cl, clorénquima; pa, parénquima; hv, sistema vascular; n, núcleo; nu, nucleolo; v, vacuola; lo, lomasoma; pc, pared celular; re, retículo endoplásmico; m, mitocondrias; clo, clo, cloroplastos.



Figs. 4- Cultivos celulares. Fig. 4a Cultivo de 39 días de incubación en el que aparecen fundamentalmente dos tipos de células: las alargadas y las pequeñas organizadas en forma radial (flechas). Fig. 4b Micrografía electrónica de las células pequeñas que muestran intensa actividad metabólica. Fig. 5a Panorámica de un cultivo con 120 días, las flechas indican aquellas células en división activa. Fig. 5b Micrografía electrónica de una célula de la zona meristémica. Fig. 6a Cultivo de 380 días. Fig. 6b Micrografía electrónica de una célula multivacuolada. Fig. 7a Cultivo de 145 días, nótese la emergencia de la porción aérea de la planta. Fig. 7 b Micrografía electrónica de una región del tejido vascular presente en el tallo (recuadro figura anterior). ca, células alargadas; n, núcleo; nu, nucleolo; m, mitocondrias; pc, pared celular; cl, cloroplasto; c, citoplasma; v, vacuola; pa, porción aérea; ci, células indiferenciadas; lo, lomasomas; px, protoxilema; ea, engrosamiento anular; r, ribosomas; re, retículo endoplásmico rugoso; il inclusión lipídica.

nización de tipo radial (Fig. 4a) y pudo observarse que la segunda aparentemente despliega gran actividad metabólica por la presencia abundante de orgánulos (Fig. 4b). En un cultivo celular de 120 días (Fig. 5a) con pigmentos verdes se han diferenciado ya masas embrionales en proceso de división, cuyas células forman un tejido tipo meristemático. Se aprecian numerosos cloroplastos y ribosomas (Fig. 5b). Asociado al plasmalema se observa un gran número de invaginaciones pignocíticas y cerca del núcleo el retículo endoplásmico rugoso y mitocondrios. El grosor de la pared celular es $\bar{x} = 280$ nm. Los cultivos celulares sin pigmento de 380 días contenían células del doble de tamaño que los de 120 días y forman cúmulos sin presentar organización definida (Fig. 6a). Algunas células poseían un gran vacúolo central, mientras que otras presentaron varios. También es notoria la presencia del retículo endoplásmico rugoso, mitocondrios e inclusiones lipídicas (Fig. 6b). El espesor de la pared ha aumentado a $\bar{x} = 420$ nm. En el cultivo de 145 días, en proceso de diferenciación, se mostraba la emergencia de la porción aérea de la planta (Fig. 7a) y una traqueida, producto de la diferenciación de células del protoxilema (Fig. 7b).

Las observaciones histológicas de la región proximal de los entrenudos son semejantes a las comunicadas por Clements (6). Sin embargo, a nivel ultraestructural se advirtieron cambios en las células internodales, como consecuencia del gradiente de especialización acrópeto de la planta. En general se puede decir que estos cambios produjeron una disminución gradual en su capacidad de desdiferenciación, como se aprecia en el Cuadro I.

Asimismo, las características anatómicas sobre el origen y diferenciación de plántulas regeneradas a partir de cultivos celulares de caña de azúcar coinciden con la información de Liu y Chen (13). Es importante mencionar, sin embargo, que los cultivos de callos mantenidos por períodos prolongados de cultivo, presentaron al microscopio óptico y electrónico una morfología característica de células homogéneas no organizadas, similar a lo descrito en callos de otros cultivos como tabaco, zanahoria, eucalipto (29) y maíz (27). Es muy significativo que estos callos mostraron una ultraestructura celular con gran organización intracitoplásmica, similar a la comunicada en maíz por Johnson y Holden (9), y no tienen el aspecto de células con degeneraciones hísticas, grandes y elongadas como las más frecuentemente descritas en los callos de maíz (10, 18). Es importante señalar que las células, a consecuencia de estas variaciones anatómicas y morfológicas, modifican su capacidad de organogénesis.

Por la relativa facilidad que presenta la determinación del grosor de la pared celular en cultivos celulares y considerando la posibilidad de que pueda existir correlación entre el carácter del grosor y el contenido de fibra en la planta, está en proceso un estudio de este componente celular en cultivos desdiferenciados de 4 meses, utilizando cultivares como el B 49-119, Co 331 ó Méx 54-81 que tienen alto contenido de fibra; ZMéx. 55-32, B 4362 y NCo 310, de contenido de fibra regular y la Méx 57-473 y Méx 56-541 que se catalogan como de contenido de fibra bajo (8). De existir tal correlación, este método podría constituir un sistema de selección a nivel celular para obtener cultivares de alto bajo contenido de fibra.

Resumen

Utilizando tejido de tallo y del huso foliar adyacente al meristemo apical de *S. officinarum* L. cv. ZMéx. 55-32 se determinó el paralelismo entre la potencialidad de dicho tejido para generar cultivos celulares desdiferenciados (en el medio de cultivo MS2) y el grado de especialización de los tejidos, definidos éstos por su posición en la planta. El gradiente internodal acrópeto determinado fue: entrenudo -1, 90%; entrenudo cero, 52%; entrenudo 1, 40%; entrenudo 2, 8% y entrenudo 3, 5%. Los gradientes basipetos de los entrenudos 1 y 2 difirieron entre sí, mientras en el 1 todo el entrenudo mostró actividad que va de 88% a 33%, en el 2 sólo el tejido de la base produjo cultivos celulares desdiferenciados (25%). El estudio anatómico mostró que los tejidos menos especializados se componen de células pequeñas, vacuoladas y aparentemente con intensa actividad metabólica, a diferencia de las que han alcanzado el grado máximo de diferenciación, que son más grandes, tienen pared celular de mayor espesor y poseen un gran vacúolo. Los cultivos celulares desdiferenciados reducen gradualmente la potencialidad de diferenciación y de la misma manera, el patrón histológico y ultraestructural fue similar al observado en el tejido de tallo.

Literatura citada

1. BARBA, R.; NICKELL, L.G. 1969. Nutrition and organ differentiation in tissue culture of sugarcane. A monocotyledon. *Planta* 89:299-302.
2. CAMARGO, P.N. 1976. Fisiología de la caña de azúcar. Serie de Divulgación Número 6. Comisión Nacional de la Industria Azucarera. Instituto para el mejoramiento de la producción de azúcar. México, D.F.

3. CARRILLO-CASTAÑEDA, G.; OJEDA, M.E. 1978. Estudio sobre el establecimiento de citocultivos e inducción de la diferenciación de caña de azúcar. Avances en la enseñanza e investigación. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx. 72 p.
4. CARRILLO-CASTAÑEDA, G.; MENDEZ, S.R. 1978. Estudio sobre la obtención de plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) por medio de citocultivos. Avances en la enseñanza e investigación. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx. 47 p.
5. CLARKE, M.A. 1984. Future research in the sugar industry. *Sugar y Azúcar* 79:38-39.
6. CLEMENTS, H.F. 1980. Sugarcane crop logging and crop control. Principles and practices. The University Press of Hawaii, Honolulu: 48-107.
7. HAYAT, M.A. 1970. Principles and techniques of electron microscopy. Vol.1. Van Nostrand Reinhold Co., New York. 412 p.
8. IMPA. 1981. Catálogo de variedades de caña de azúcar. Serie de divulgación técnica Número 14. Comisión Nacional de la Industria Azucarera. Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar. México, D.F.
9. JOHNSON, J.W.; HOLDEN, D.J. 1974. Ultrastructure of callus tissue of *Zea mays*. Canadian Journal of Botany 52:251-254.
10. KING, P.J.; POTRIKUS, I.; THOMAS, E. 1978. *In vitro* genetics of cereals: problems and perspectives. *Physiology Vegetal* 16:381-399.
11. KRISHNAMURTHI, H.; TLASKAL, J. 1974. Fidji disease resistant *Saccharum officinarum* var. Pindar subclones from tissue cultures. Proceedings International Society Sugarcane Technical 15:130-137.
12. LEFFINGWELL, R.J. 1985. Facts about sugar, New York report. *Sugar y Azúcar* 80:4-5.
13. LIU, M.C.; CHEN, W.H. 1974. Histological studies on the origin and process of plantlet differentiation in sugarcane callus mass. *Plant Breeding* 15:118-129.
14. LUFT, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 9:409.
15. MAZZONE, J.S. 1985a. Facts about sugar. Brazil wants to increase alcohol exports to USA. *Sugar y Azúcar* 80:38-39.
16. MAZZONE, J.S. 1985b. Facts about sugar. Brazil exports high test molasses to The United States. *Sugar y Azúcar* 80:10-12.
17. MENDEZ, S., R. 1979. Estudio del efecto del tiempo sobre la diferenciación de citocultivos de cuatro variedades de caña de azúcar. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
18. MOTT, R.L.; CURE, W.W. 1978. Anatomy of maize tissue cultures. *Physiology Plantarum* 42:139-145.
19. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum* 15:473-497.
20. NICKELL, L.G. 1964. Unusual effects of dactinon on cane tissue culture. Annual Report Experimental Station H.S.P.A. Hawaii. 2 p.
21. NICKELL, L.G. 1965. Tissue and cell culture form sugar cane research. Proceedings International Society Sugarcane Technical 12:887-892.
22. OJEDA, E.; M.A. 1978. Estudio sobre el establecimiento de citocultivos e inducción de diferenciación en caña de azúcar. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
23. OJEDA E.; M.A.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. 1980. Establecimiento de citocultivos e inducción de diferenciación en dos variedades de *Saccharum* sp. *Agrociencia* 42:59-67.
24. PONCE D.P.; CARRILLO-CASTAÑEDA G.; ORTEGA, M.L.; FUCIKOVSKY Z.L. 1984. Cambios en el contenido de compuestos fenólicos en citocultivos de *Saccharum officinarum* L. *Agrociencia* 55:91-100.
25. REYNOLDS, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal Cell of Biology* 17:208.
26. SABATINI, D.D.; BENSCH, K.; BARNETT, R.J. 1963. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular structure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *Journal Cell of Biology* 17:19.

27. SANCHEZ DE JIMENEZ, E.; VARGAS O.M.; YAÑEZ L. 1983. Establecimiento de una línea celular de maíz (*Zea mays*) en cultivo *in vitro*. Capacidad de rediferenciación. *Agrociencia* 52:101-113.
28. SANCHEZ, N.F. 1972. Materia prima: Caña de Azúcar. Librería de Porrúa Hnos. y Cia., S.A. México, D.F.
29. SHARP, W.R.; LARSEN P.D.; PADDOC, E.F.; RAGHAVAN V. 1977. Plant and cell tissue culture principles and applications. Ohio State University Press. Columbus, Ohio, USA.
30. TORISSON, I. 1984. The potential for generation of public electricity in cane sugar factories. *Sugar y Azúcar* 79:21-31.
31. TRUMP, B.F.; SMUCKLER, E.A.; BENDITT, E.P. 1961. A method for staining epoxy sections for light microscopy. *Journal Ultrastructural Research* 5:343.
32. WATSON, N.L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Journal of Biophysical Biochemical Cytology* 4:727.
33. VAN DILLEWIJN, C. 1952. Botany of the sugarcane. The Chronica Botanica Co. Book Dep. Waltham Mass., USA. p. 101-107.
34. VELAZQUEZ Z.G.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. 1981. Cultivo de tejidos de *Saccharum officinarum* L. IV. Características agronómicas de plantas obtenidas *in vitro*. VIII Congreso Sociedad Mexicana de Botánica A.C. Morelia, Mich. México. 223 p.

Notas y comentarios

Plantas que evitan la competencia

Charles Darwin mostró que las plantas de polinización cruzada producían una progenie mejor que las plantas autopolinizadas. Sin embargo, la autopolinización se ha desarrollado muchas veces entre las plantas con flores. Los botánicos han sugerido muchas razones sobre porqué esto puede ser así: mayor certeza de reproducción o la capacidad de colonizar más rápidamente nuevos habitats. R. Wyatt, del Departamento de Botánica de la Universidad de Georgia, en Athens, sugiere ahora que la competencia por polinizadores podría ser la razón para que se evolucionase

hacia la autopolinización en algunas especies (*Journal of Ecology*, vol. 74, p. 403).

Wyatt estudió a *Arenaria uniflora*, una planta americana de lugares rocosos. Normalmente, la planta es de polinización cruzada pero tiene formas autopolinizadoras en las lindes de su territorio. Wyatt no encontró correlación entre la variación ambiental y el método de polinización. La única diferencia parece ser la presencia de una especie emparentada, *Arenaria glabra*, la cual es polinizada por los mismos insectos. Sólo donde esta planta estaba presente, la *A. glabra* era autopolinizadora. *A. glabra* tiene flores más grandes y vistosas que *A. uniflora* y Wyatt sugiere que los insectos polinizadores se dirigen a las flores más vistosas. *A. uniflora*, según parece, ha desarrollado una forma autopolinizada para sobrevivir en los sitios en que ha perdido la competición por atraer a los insectos polinizadores. A.G.