

Nota Técnica

**EFFECTO DEL ETHREL-480 SOBRE LA ANATOMÍA DEL TALLO
EN CUATRO VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR**

Pedro Marrero^{1/}, Sara Pérez*, Hipólito Peralta*, Janetsy Borroto**, María de los Ángeles Blanco***

Palabras clave: Histología, floema, xilema, parénquima, haces vasculares, Ethrel-480, caña de azúcar, *saccharum* spp.

Keywords: Histology, phloem, xylem, parenchyma, vascular bundles, Ethrel-480, sugarcane, *saccharum* spp.

Recibido: 31/05/05

Aceptado: 04/07/05

RESUMEN

Se estudió el efecto del Ethrel-480 sobre la estructura anatómica del tallo en 4 variedades de caña de azúcar. Secciones de tallo de todas las variedades fueron procesadas para el estudio histológico. La evaluación al microscopio, de 5 variables de la porción interna del tallo, reveló un aumento en la masa de tejido en todas las variedades estudiadas por efecto de este regulador de crecimiento. Se encontró un incremento significativo en el desarrollo de las células del parénquima de almacenamiento y de los haces vasculares del tallo en todos los tratamientos, con un mayor efecto en la variedad CP5243, lo que indica que es la variedad con una mayor respuesta a la aplicación exógena del bio-estimulador. La alteración más notoria por efecto del estimulador del crecimiento, fue un aumento del 45% en el diámetro del floema en la variedad C323-68, índice significativamente superior respecto a las demás variedades. Sin embargo, el diámetro de los elementos conductores del xilema y del floema no tuvo variaciones significativas en ninguna de las variedades tratadas con Ethrel-480, lo que indica que esta variable es genéticamente estable y poco susceptible a sufrir alteraciones por efecto este regulador del crecimiento.

ABSTRACT

Effect of Ethrel-480 on stem anatomical structure in four sugar cane varieties. The effect of the Ethrel-480 on the stem anatomical structure, in 4 sugar cane varieties, was evaluated. Stem sections of all varieties were processed for histological study. Microscopic examination, of 5 anatomical parameters in the inner portion of the stem revealed a positive effect of this growth regulator, increasing the mass of the stem tissue in all varieties studied. Sugar-storage parenchyma cells and vascular bundles increased significantly their diameter in all varieties, with a larger effect in the CP5243 variety, making this the most responsive variety to the effect of this bio-stimulator. The most remarkable alteration effect of this growth regulator was the of 45% increase in phloem thickness in the C323-68 variety, significantly different from the rest. The diameter of the xylem vessels and phloem conducting elements did not undergo significant variations under the influence of the Ethrel-480 in any of the varieties studied; this indicates that vascular elements are genetically stable and unsusceptible to alterations due to the action of this growth regulator.

1/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: pfa_pedro@agronomia.unica.cu

* Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Ciego de Ávila (UNICA). Cuba.

** Centro de Biotecnología de las Plantas. Universidad de Ciego de Ávila (UNICA). Cuba.

INTRODUCCIÓN

El Ethrel-480 o ethephon (Ácido 2-clo-roetilfosfónico) está clasificado como un regulador del crecimiento fosfónico (Grupo Disagro 2002) que actúa liberando etileno en el interior de las plantas. Su uso en el cultivo de la caña de azúcar se ha centrado en mejorar la maduración (concentración de sacarosa en el tallo) o en inhibir la floración con un aumento de la productividad agrícola.

Uno de los efectos más comunes que se ha encontrado con la aplicación de este madurador en la caña de azúcar es el incremento de la biomasa del tallo debido al aumento en diámetro de los entrenudos y no tiene efectos bioquímicos en la acumulación de azúcares en el parénquima sacarino del tallo (Page 1983).

Otros efectos del Ethrel-480 son el alargamiento del periodo de corte de las variedades de maduración temprana con la consiguiente inhibición de la floración (Bocanegra 1990).

Existen muchos trabajos que estudian el efecto de diferentes agentes químicos sobre la anatomía de los cultivos, pero la información acerca de la influencia de este madurador sobre la anatomía de la caña de azúcar es limitada. Por tal motivo, el propósito principal este trabajo fue determinar las alteraciones anatómicas que se producen en el tallo de la caña de azúcar por el efecto de aplicaciones exógenas del madurador Ethrel-480.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento de campo (2001-2002), se desarrolló sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado, en la Estación Provincial de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Ciego de Ávila (EPICA), la cual se encuentra situada a 21°46' latitud norte y 78° 47' de longitud oeste.

El diseño empleado fue un bloques completos al azar, con 4 tratamientos que fueron las variedades de caña de azúcar: C1051-73, C323-68, CP5243 y My5514 y 4 repeticiones. Cada parcela se dividió en 2 subparcelas, una como testigo y la otra para estudiar los efectos del fitoregulador.

Cada parcela contó con 11 surcos de 7,5 m de largo (área total por parcela de 123,75 m²), de los cuales se tomó los 9 surcos interiores para las evaluaciones. El Ethrel-480 (ácido 2-clo-roetilfosfónico) se aplicó en la primera semana de Octubre del 2001 a los 6 meses de edad de la plantación, a razón de 2 l ha⁻¹ (960 g i.a.), utilizando una bomba de espalda que permitió asperjar el producto uniformemente sobre la superficie foliar.

Los trabajos de histología se realizaron en el laboratorio de Botánica de la Universidad de Ciego de Ávila (UNICA), para esta finalidad se tomó 4 muestras del tercio medio de los tallos por cada repetición en cada una de las variedades, con aplicación del Ethrel-480 y sin la aplicación de este (testigo). Las muestras se colectaron 50 días después de la aplicación del producto.

Para el análisis histológico se obtuvo secciones cilíndricas del tallo de la región central, de 1 cm de diámetro, las cuales se fijaron en FAA (formalina-aceto-alcohol) por 48 horas y posteriormente se lavaron en agua corriente, luego fueron seccionadas en un micrótopo manual a 25 µm de espesor. Finalmente, los cortes fueron teñidos con safranina-hematoxilina (Kiernan 1999). Los cortes ya teñidos fueron montados en glicerina jelly. Para las mediciones de los parámetros anatómicos se usó un micrómetro ocular adaptado a un microscopio fotónico compuesto Laboval-3. Las variables histológicas evaluadas fueron:

1. Diámetro de las células del parénquima de almacenamiento (sacarino) del tallo.
2. Diámetro mayor de los haces vasculares.
3. Diámetro de los vasos del xilema (elementos traqueales del metaxilema).
4. Diámetro del floema.
5. Diámetro de los elementos del floema (cribosos).

Además de estos marcadores histológicos se determinó el efecto de los tratamientos en la producción de la masa fresca del tallo por planta.

Se realizó 100 mediciones micrométricas en cada una de las muestras obtenidas por

variedad y repetición, los datos obtenidos se procesaron con el estadístico SPSS; además, se realizó una comparación múltiple de medias con una probabilidad del 95% (Tukey HSD test).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se muestra la influencia del bioestimulador Ethrel-480 sobre algunas variables histológicas del tallo.

Las 4 variedades estudiadas muestran sensibilidad a la aplicación exógena del Ethrel-480. Las variables anatómicas del tallo más proclives a variar por efecto endógeno de este biorregulador son: el diámetro del floema, el diámetro de los haces vasculares y el diámetro de las células parenquimáticas.

El diámetro de las células parenquimáticas, independientemente del efecto del Ethrel-480, presenta una marcada variabilidad genética entre las variedades. El promedio general de

Cuadro 1. Efecto del Ethrel-480 en la anatomía del tallo en 4 variedades de caña de azúcar.

VARIABLES ANATÓMICAS DEL TALLO	VARIEDADES							
	My5514		CP5243		C323-68		C1051-73	
	SE μm	CE μm	SE μm	CE μm	SE μm	CE μm	SE μm	CE μm
Diámetro parénquima E S: 2,581 X=139,63	128,22 cd*	138,19	152,06 a	178,81	146,21 b	156,05	131,95 c	145,27
% de increm.	7,8		17,6		6,7		10,1	
Significación	**		**		**		**	
Diámetro haz vascular E S: 6,578 X=326,84	330,23 c	365,66	351,48 a	395,38	285,10 d	318,77	340,57 ab	359,09
% de increm.	10,7		12,5		11,8		5,4	
Significación	**		**		**		**	
Diámetro vasos xilema E S: 4,211 X=88,37	87,57	95,42	95,17	91,42	85,63	84,23	85,14	85,74
Significación	N S		N S		N S		NS	
Diámetro floema E S: 2,161 X=75,00	90,12 a	95,66	67,50 c	78,13	56,82 d	82,26	85,59 ab	102,03
% de increm.	6,1		15,7		44,8		19,2	
Significación	**		**		**		**	
Diámetro elementos floema E S: 1,240 X=22,05	22,81	23,79	21,66	20,83	20,98	23,41	22,65	23,79
Significación	N S		N S		N S		NS	

SE= Sin Ethrel.

CE= Con Ethrel

* Letras iguales en cada línea no difieren según la prueba de Tukey a $p \leq 0,05$.

** Diferencia $p \leq 0,01$ entre el testigo y las plantas tratadas.

139,63 μm encontrado en este ensayo es bastante aproximado al reportado por Oworu *et al.* (1977) de 140 μm en un estudio anatómico-fisiológico de 9 clones de caña de azúcar.

El incremento en diámetro de las células del parénquima de almacenamiento-sacarino, que ocupan gran volumen del tallo, confirma indirectamente el aumento de la biomasa y a nivel de variable fenológica un mayor grosor del tallo (Page 1983). En la figura 1 se muestra la dinámica de incremento de la biomasa durante el ciclo de desarrollo del cultivo y se evidencia como influye de forma positiva el bioestimulador sobre la masa fresca del tallo en las variedades estudiadas, excepto en la CP52-43, donde el aumento de la biomasa en plantas tratadas y no tratadas fue similar. Estos resultados son concordantes con los resultados en el cuadro 1, donde en 3 de las variables evaluadas se aprecia también una

respuesta positiva a nivel tisular en las plantas tratadas. Este efecto positivo del biorregulador corrobora lo planteado por Rincones (1992), el cual encontró un aumento discreto, pero significativo, del diámetro del tallo al aplicar Ethrel-480 a razón de 1,6 l ha⁻¹ en la variedad CP721210.

El incremento en diámetro de las células de almacenamiento-sacarino del tallo, bajo el efecto del Ethrel, fue significativamente superior en la CP5243 (17,59%), lo que indica la alta sensibilidad de este tejido al efecto del biorregulador (Figura 2, A y B).

El mayor crecimiento radial de las células parenquimáticas del tallo, bajo la acción del biorregulador, se explica debido a que este producto libera etileno endógenamente por descomposición espontánea, el cual ejerce un efecto determinante en el crecimiento celular. Este regulador, en bajas concentraciones, reduce el alargamiento celular e

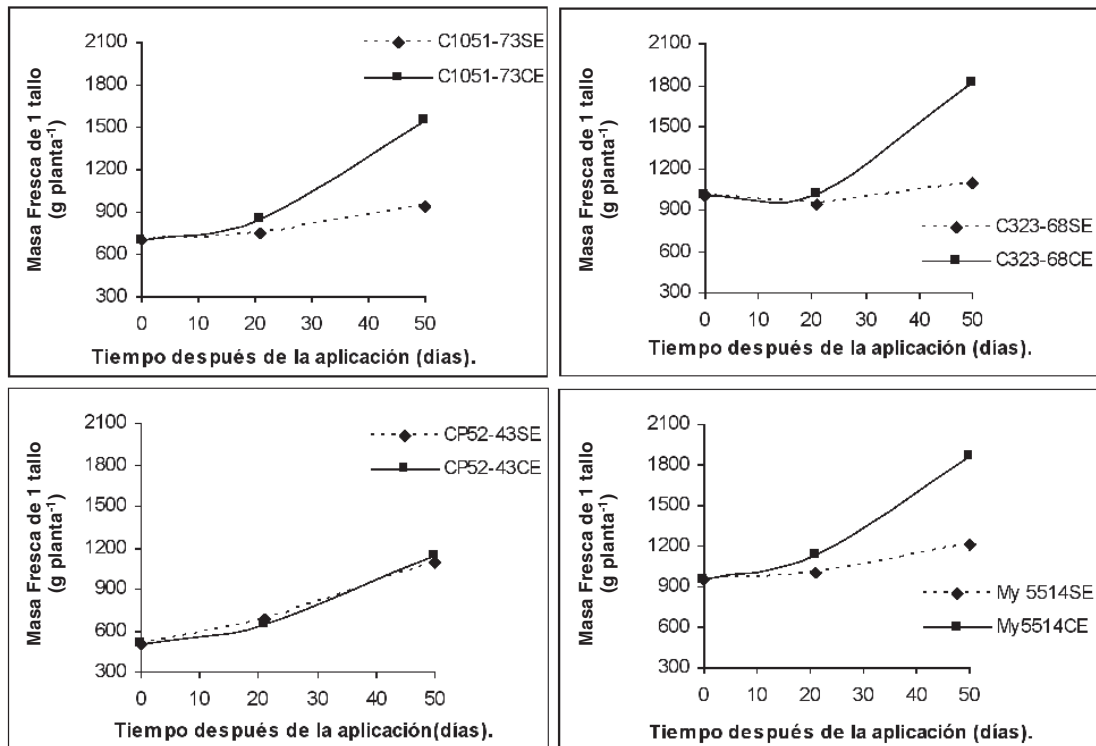


Fig. 1. Dinámica de la masa fresca promedio de un tallo, con la aplicación de Ethrel-480 y sin el. El testigo se simboliza con SE (sin Ethrel) y las plantas tratadas con CE (con Ethrel).

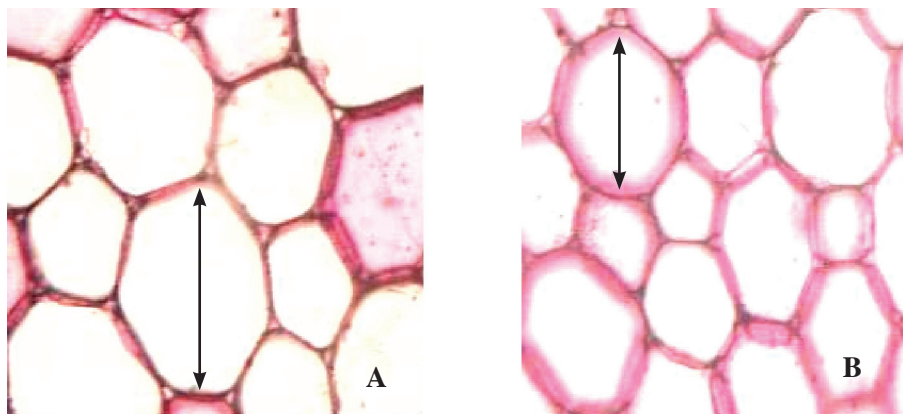


Fig. 2. Variedad CP5243. Células parenquimáticas en sección transversal del tallo. A: Diámetro del parénquima de almacenamiento-sacarino tratado con Ethrel (flecha). B: Células normales del parénquima de almacenamiento en el testigo (flecha) (100 X).

incrementa la expansión celular (Zacarías 1992). Fenómeno que se explica por las alteraciones que produce en la orientación de los microtúbulos y, por tanto, en la ordenación espacial de las microfibrillas de celulosa en la pared; que bajo su efecto conduce a un cambio conformacional en la estructura de las láminas celulósicas por orientación de las microfibrillas en forma longitudinal, contribuyendo así al crecimiento radial de las células (Grichko y Glik 2001) (Eklund y Little 1996). Niveles elevados de etileno en las plantas

han estado correlacionados con varios cambios fisiológicos donde se incluye el incremento del diámetro de los tallos (García 2004, Marassi 2004), fenómeno que está relacionado con la elevación del ritmo de división y subsiguiente expansión celular en los meristemos caulinares (Bleecker y Kende 2000).

Los haces vasculares presentan un tamaño significativamente superior con aplicación de Etrhel-480 en las variedades CP5243 y My5514 (Figura 3 A-B), según se confirma en los índices

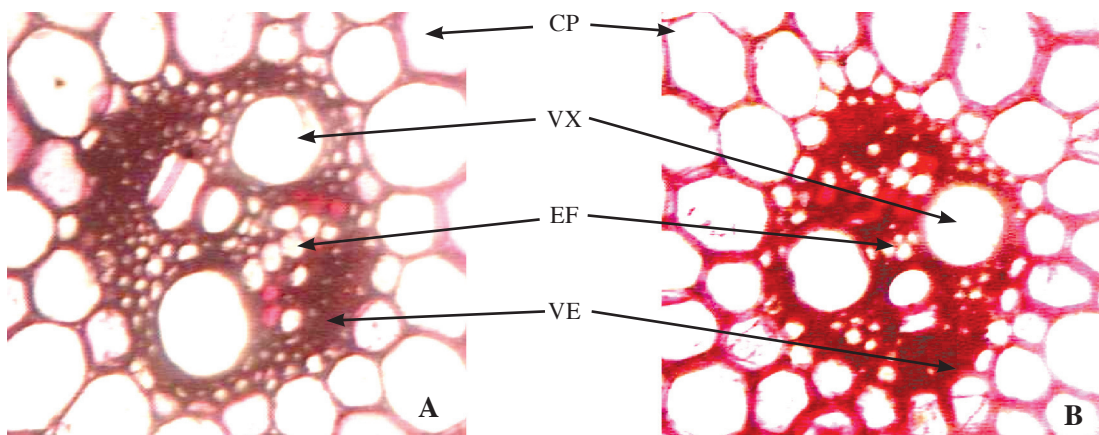


Fig. 3. A: Haces vasculares del tallo en la variedad My5514 donde puede observar el mayor desarrollo de sus elementos celulares (tratamiento con aplicación de Ethrel-480). B: (testigo). VX: vasos del xilema, EF: Elementos del floema, VE: Vaina esclerenquimática, CP: Células parenquimáticas rodeando el haz vascular (100 X).

micrométricos encontrados para esta variable anatómica con diferencias menos marcadas para las variedades C323-68 y C1051-73.

Del análisis de estos resultados se puede inferir que existe una respuesta diferencial de las 4 variedades a la acción del regulador del crecimiento.

El Ethrel-480 es un activador del metabolismo vegetal e influye en el crecimiento de muchos órganos de la planta, como se demuestra en yemas aisladas de caña de azúcar, donde se evidenció su efecto positivo en variables fenológicas como: área foliar, hojas activas y en el porcentaje de brotación, que fue superior en comparación con el testigo (Crach *et al.* 1999).

Respecto al desarrollo del floema, del cuadro 1 se puede inferir que la respuesta varietal al efecto del bioregulador fue notoriamente positiva en la C323-68 con un incremento significativo del 44,8% con relación a las restantes variedades. Este aumento del área floemática podría ser provocado por la formación de nuevos elementos cribosos y no por el aumento en el diámetro vascular. Esta acción del regulador del crecimiento se manifiesta en un efecto hiperplásico a través de la activación de los cordones procambiales y ulterior diferenciación de los elementos cribosos. Evidencias de la estimulación cambial con generación de nuevos elementos vasculares por efecto del ácido 2-cloroetilfosfónico en plantas leñosas han sido publicadas por Eklund y Little (1996) y Einsinguer (1983), quienes observaron, además, un incremento notable de la concentración de AIA y evolución del etileno, dependiendo de la concentración del biorregulador fosfónico aplicado.

Por otra parte, como se expresa en el cuadro 1, el diámetro de los elementos traqueales (vasos del xilema) y de los elementos cribosos es bastante similar en las 4 variedades estudiadas y no presentan diferencias biométricas entre variedades ni tampoco por efecto del biorregulador fosfónico (Figura 3, A y B). Este comportamiento podría deberse a que los elementos traqueales

experimentan una diferenciación temprana en el proceso de xilogénesis, con muerte irreversible por lisis del protoplasma y subsiguiente impregnación de lignina y otras sustancias en las paredes de los vasos, las que le confieren resistencia mecánica a la expansión celular.

La xilogénesis es considerada uno de los procesos más importantes para el desarrollo de las plantas vasculares, se inicia durante la embriogénesis y se mantiene durante toda la vida de la planta. Las células del procambium y del cambium, primero se desdiferencian y después se rediferencian en traqueidas. La rediferenciación a traqueida, además de producirse una elongación celular, implica la síntesis de una pared secundaria gruesa, mientras que en el xilema sufren un proceso análogo al de muerte celular programada, resultando en vasos con una pared celular reforzada (León *et al.* 2004).

En conclusión, el Ethrel-480 actúa para las condiciones de este experimento como un biorregulador que estimula positivamente el desarrollo del tallo, en especial las células parenquimáticas de almacenamiento-sacarino, variable histológica que repercute favorablemente en el aumento de la biomasa fresca. Además, se observó que las alteraciones histológicas más notables ocurrieron en el diámetro de las células parenquimáticas, de los haces vasculares y del floema en todas las variedades analizadas.

Por otra parte, el diámetro de los vasos del xilema y de los elementos del floema no experimentó variaciones significativas en el análisis comparativo intervarietal, ni tampoco bajo el efecto endógeno del regulador del crecimiento, lo que demuestra una alta estabilidad genética después de sufrir una histogénesis temprana. Aun así, el Ethrel-480 en su papel de biorregulador del crecimiento, provoca un marcado efecto en el desarrollo del floema, siendo particularmente notorio en la variedad C323-68, donde alcanzó un índice de incremento del 44,8%, superando notablemente a las variedades restantes.

LITERATURA CITADA

- BLEECKER A.B., KENDE H. 2000. Ethylene: A gaseous signal molecular in plant. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 16: 1-18.
- BOCANEGRA J. 1990. Acuerdo de convenio Rhone Poulenc con MINAZ sobre el desarrollo del Ethrel en caña de azúcar. 78(7): 12-14.
- CRACH I., DÍAZ J., MORALES M., GARCÍA I., MARCHANTE V., HERNÁNDEZ F., GONZÁLEZ R. 1999. Enerplant: Nuevo regulador orgánico para el desarrollo de la caña de azúcar en Cuba. EPICA, Santiago de Cuba. <<http://www.santiago.cu.epica/>>principio. [Marzo28, 2004].>
- EINSINGUER W. 1983. Ethylene and seed germination. *In: The plant hormone ethylene.* A. K. Mattoo, J. C. Suttle (eds), C. R. C. Florida, p. 133-157.
- EKCLUND L., LITTLE C. H. A. 1996. Laterally apply Ethrel causes local increases in radial growth and indole-3-acetic acid concentration in *Abies balsamea* shoots. *Tree Physiology* 16: 509-513.
- GARCÍA F.J. 2004. Fitorreguladores. Universidad Politécnica de Valencia. <http://academicos.cualtos.udg.mx/agroindustrias/pagina_fv/lecturas/upv_fitorreguladores.htm>. [Julio 15, 2005]. Grupo Disagro. 2002. Ethrel 48 SL. Productos y servicios (Agroquímicos), Protección Vegetal. EPICA. Santiago de Cuba.
- GRICHKO V.P., GLICK B. R. 2001. Ethylene and fooding stress in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 1-9.
- GRUPO DISAGRO. 2002. Ethrel 48 SL. Productos y servicios (Agroquímicos), Protección Vegetal. EPICA. Santiago de Cuba.
- KIERNAN J.A. 1999. *Histological and histochemical methods: Theory and practice.* Butterworth Heinemann. Oxford. 340 p.
- LEÓN M. J., XOCONOSTLE B., RUIZ R. 2004. Comunicación intercelular a distancia a través del floema en plantas. <medrano@enigma.red.cinvestav.mx>. [Diciembre 1, 2004].
- MARASSI M. A. 2004. Hormonas vegetales. Hipertextos de área de biología. Argentina. <<http://fai.unne.edu.ar/biologia/plantas/hormonas.htm>>. [Julio 18, 2005].
- OWORU O., MAC DAVID C. R., MAC COLL D. 1977. The anatomy of the storage tissue in sugar cane stems and its relation to sugar transport. *Anat. J. Biol. Sci.* 18: 959-969.
- PAGE D. L. 1983. Ethepon. Un fitorregulador de caña de azúcar de notable versatilidad. *Sugar y Azúcar* 78(7): 1-12.
- RINCONES C. 1992. Observaciones del efecto del ethepon en la floración y desarrollo de dos variedades de caña de azúcar. *FONAJAP-CENIAP* 10(1): 37-45.
- ZACARÍAS I. 1992. Etileno. *In: Fisiología y bioquímica vegetal.* Bieto, J. A. (ed.), Mc Graw-Hill. España. p. 343-356.