

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Evaluación de soluciones nutritivas y cruces durante la etapa de  
hibridación de la caña de azúcar (*Saccharum* spp) en Costa Rica**

Trabajo de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de  
Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional para optar al grado de Licenciatura en  
Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa

**Estudiante**

Juan Pablo Carvajal Quesada

**Tutor**

PhD. Rafael Orozco Rodríguez

**Asesores**

Lic. Juan Félix Arguello Delgado

M Sc. José Roberto Durán Alfaro

Campus Omar Dengo  
Heredia, Costa Rica, 2023

**Evaluación de soluciones nutritivas y cruces durante la etapa de hibridación de la caña de azúcar (*Saccharum spp*) en Costa Rica**

Juan Pablo Carvajal Quesada

**Trabajo final de graduación de tesis sometida a consideración del tribunal examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa**

**Trabajo final de Graduación presentado como requisito parcial para optar al  
grado de Licenciado en Ingeniería en Agronomía**

**Tribunal Examinador**

---

M. Sc. Margaret Pinnock Branford  
Vicedecana FCTM

---

M. Sc. Andrés Alpízar Naranjo  
Director Escuela de Ciencias Agrarias

---

PhD. Rafael Orozco Rodríguez  
Tutor

---

Lic. Juan Félix Arguello Delgado  
Asesor

---

M. Sc. José Roberto Durán Alfaro  
Asesor

---

Juan Pablo Carvajal Quesada  
Postulante

## **DEDICATORIA**

A Dios en primera instancia, por darme la vida.

A mis abuelos Georgina Madrigal y Guido Quesada (q.e.p.d.) que me han apoyado en los momentos más importantes de mi vida.

A mi hijo Thomas, que es regalo más hermoso que Dios me ha dado, y a mi esposa María Fernanda por estar conmigo en todos los buenos y malos momentos.

A mi perro Goliath, por el acompañamiento incondicional a través de tantos años.

A mis padres, Maruja y Oscar por haberme apoyado e inculcado buenos valores que me han hecho crecer de manera positiva como persona y profesional.

Al Ing. José Roberto Durán por todas las enseñanzas brindadas que me han ayudado a crecer profesionalmente.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme la vida, por todas las bendiciones recibidas y permitirme la oportunidad de lograr esta tesis de licenciatura.

A mis abuelos Georgina Madrigal, Guido Quesada (q.e.p.d.) y Rosa Carvajal por todo el apoyo brindado para lograr mi meta de ser profesional.

A mi familia, mi hijo Thomas, que es regalo más hermoso que Dios me ha dado, y a mi esposa María Fernanda por estar conmigo en todos los buenos y malos momentos.

A mis padres, Maruja y Oscar, mis hermanos Oscar y especialmente a Vanesa (q.e.p.d) por todos los buenos recuerdos que tuvimos.

A mi sobrina Chantal, por ser un pilar importante desde que llego a mi vida.

A mis tíos Carmen, Cornelio y Nelson por todos sus consejos y apoyo incondicional.

Al Ing. José Roberto Durán por guiarme durante muchos años, más que un jefe un amigo.

A mis tutores Rafael Orozco Rodríguez y Juan Félix Arguello Delgado por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo, y su empuje para lograr finalizarlo.

A la empresa LAICA, en especial al Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), a su gerente M. Sc. Alejandro Rodríguez por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

A la Universidad Nacional (UNA), la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA) por darme la oportunidad de realizar mis estudios en esta valiosa institución.

A mis compañeros de equipo Eduardo Vargas, Luis Alejandro Jiménez y José Luis Rodríguez por el apoyo recibido durante todo el proceso de elaboración de este proyecto.

Al M. Sc. Alejandro Vargas de la UNA por su apoyo en el análisis estadístico e interpretación de los datos.

Agradecimientos a Hector Orozco y José Luis Quemé de CENGICAÑA de Guatemala, Edison Silva del CINCAE de Ecuador, Carlos Flores del CIDCA de México y Victor Carabaloso del INICA de Cuba por toda la información brindada.

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar en la etapa de hibridación de la caña de azúcar tres soluciones nutritivas y dos cruza con el fin de obtener una mayor cantidad de semilla botánica (fuzz). El ensayo se realizó bajo ambiente controlado en Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA) perteneciente a la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), ubicada en Santa Gertrudis Sur, Grecia Costa Rica. Se utilizaron seis tratamientos producto de la combinación de tres tipos de soluciones nutritivas a base de ácido sulfúrico, ácido nitroso y ácido sulfúrico en diferentes concentraciones denominadas como: Ecuador-Australia, México-Guatemala y Costa Rica y dos cruza (LAICA 01-604 \* RB 86-7515 y LAICA 08-390 \* RB 86-7515). Las variables evaluadas fueron: días a cosecha, peso seco de la semilla botánica (fuzz) y producción de plántulas. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tres soluciones nutritivas con dos cruza, donde la unidad experimental fueron dos panículas femeninas y tres panículas masculinas con tres repeticiones por cruzamientos y por solución. Se realizó un análisis de varianza por medio del programa INFOSTAT y se aplicó la prueba de separación de medias por medio de la metodología DGC con un alfa de 0,05%. Para todas las variables analizadas la interacción cruce versus solución nutritiva no presentaron diferencias estadísticas significativas. El factor cruce produjo diferencias estadísticas significativas en las variables peso seco de la semilla y producción de plántulas. La cruza 2 con las variedades LAICA 08-390 x RB 86-7515 fue el de menor tiempo a cosecha con 27,83 días, aunque ninguno supero los 30 días. En lo que respecta a la producción de semilla el cruce 2 (LAICA 08-390 \* RB 86-7515) obtuvo la mayor producción con 11,87 g contra un 5,97 del cruce 1 (LAICA 01-604 \* RB 86-7515). El cruce 1 produjo 15,11 plántulas por gramo y el cruce 2 solo llevo a 0,5 plántulas. En la variable peso seco de la semilla botánica la solución 3 (Costa Rica) obtuvo la mayor cantidad de semilla con 9,84 gramos y la solución 1 (Ecuador-Australia) con la de menor producción con 8,29 gramos. En la variable plántulas producidas en el efecto soluciones se encontró que la solución 3 (Costa Rica) presento la mayor cantidad de plántulas con 13,17 por gramo, seguida de la solución 1 (Ecuador-Australia) con 6,08 plántulas y la solución 2 (México-Guatemala) con 4,17 plántulas. La solución nutritiva Costa Rica mostro una mayor producción de plantas por gramos de semilla, aunque su efecto no fue estadísticamente significativo no se descarta que en volúmenes mayores de producción de plántulas este valor sea representativo para los programas de mejoramiento genético en caña de azúcar. El cruzamiento LAICA 01-604 \* RB 86-7515 presento valores positivos en relación con la producción de plantas por semilla producida, evidenciándose como un buen progenitor en programas de mejora que usa LAICA.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate three nutrient solutions and two crosses at the sugar cane hybridization stage in order to obtain a greater amount of botanical seed (fuzz). The trial was conducted under a controlled environment at the Directorate of Research and Extension of Sugar Cane (DIECA) belonging to the Industrial Agricultural League of Sugar Cane (LAICA), located in Santa Gertrudis Sur, Grecia Costa Rica. Six treatments were used, the product of the combination of three types of nutritional solutions based on sulfuric acid, nitrous acid and sulfuric acid in different concentrations called: Ecuador-Australia, Mexico-Guatemala and Costa Rica and two crosses (LAICA 01-604 \* RB 86-7515 and LAICA 08-390 \* RB 86-7515). The variables evaluated were: days to harvest, dry weight of the botanical seed (fuzz) and seedling production. A completely random experimental design with factorial arrangement of three nutrient solutions with two crosses was used, where the experimental unit were two female panicles and three male panicles with three repetitions per crosses and per solution. An analysis of variance was performed using the INFOSTAT program and the means separation test was applied using the DGC methodology with an alpha of 0.05%. For all the variables analyzed, the cross-over interaction versus nutrient solution did not present significant statistical differences. The crossover factor produced significant statistical differences in the variables dry weight of the seed and seedling production. The cross 2 with the varieties LAICA 08-390 x RB 86-7515 was the one with the shortest time to harvest with 27.83 days, although none exceeded 30 days. Regarding the seed production, the cross 2 (LAICA 08-390 \* RB 86-7515) obtained the highest production with 11.87 g against a 5.97 of the cross 1 (LAICA 01-604 \* RB 86-7515). Cross 1 produced 15.11 seedlings per gram and cross 2 only reached 0.5 seedlings. In the variable dry weight of the botanical seed, solution 3 (Costa Rica) obtained the highest amount of seed with 9.84 grams and solution 1 (Ecuador-Australia) with the lowest production with 8.29 grams. In the variable seedlings produced in the solutions effect, it was found that solution 3 (Costa Rica) presented the largest number of seedlings with 13.17 per gram, followed by solution 1 (Ecuador-Australia) with 6.08 seedlings and solution 2 (Mexico-Guatemala) with 4.17 seedlings. The Costa Rica nutrient solution showed a higher production of plants per grams of seed, although its effect was not statistically significant, it is not ruled out that in higher volumes of seedling production this value is representative for genetic improvement programs in sugar cane. The crossing LAICA 01-604 \* RB 86-7515 presented positive values in relation to the production of plants per seed produced, being evidenced as a good parent in improvement programs that LAICA uses.

## TABLA DE CONTENIDOS

### 1 Tabla de contenido

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
TABLA DE CONTENIDOS.....	vii
LISTA DE TABLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ANEXOS.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. MARCO TEORICO .....	5
3.1 Generalidades del cultivo de caña de azúcar .....	5
3.2 Taxonomía de la caña de azúcar .....	5
3.3 Origen .....	7
3.4 La caña de azúcar en Costa Rica .....	8
3.5 Mejoramiento genético de la caña de azúcar .....	10
3.6 Floración .....	11
3.7 Biología floral .....	12
3.8 Hibridación de la caña de azúcar .....	12
3.8.1 Métodos de hibridación.....	13
3.8.2 Método de Coimbatore o cruzamiento “in situ” .....	13
3.8.3 Cruzamiento con un progenitor aislado .....	13
3.8.4 Cruzamiento con ambos progenitores aislados.....	14
3.8.5 Técnica del margullo .....	14
3.8.6 Técnica del ácido sulfuroso o solución hawaiana.....	14
3.8.7 Soluciones nutritivas basadas en ácido sulfuroso .....	14
3.8.7.1 Manejos de la solución nutritiva.....	15
3.8.8 Sexado.....	17
3.9 Establecimiento de los cruces.....	17
3.9.1 Tipos de cruzamientos .....	18
3.9.2 Cruzas simples o biparentales.....	18
3.9.3 Cruzas múltiples o policruces .....	19
3.9.4 Autopolinización .....	19
3.9.5 Polinización libre.....	19
3.9.6 Cosecha, secado y conservación de la semilla sexual (Fuzz) .....	19
3.10 Variedades de caña de azúcar .....	20

3.10.1	LAICA 08-390.....	20
3.10.2	LAICA 01-604.....	20
3.10.3	RB 86-7515.....	21
4.	METODOLOGÍA .....	22
4.1	Ubicación del ensayo .....	22
4.2	Condiciones meteorológicas.....	22
4.3	Material vegetal.....	22
4.4	Soluciones nutritivas.....	22
4.5	Establecimiento y manejo del ensayo .....	23
4.5.1	Selección de inflorescencias .....	23
4.5.2	Sexado.....	23
4.5.3	Montaje del ensayo .....	23
4.5.4	Mantenimiento del cruce .....	24
4.5.5	Cosecha, secado, conservación de la semilla botánica y prueba de germinación .....	24
4.6	Tratamientos a evaluar .....	25
4.7	VARIABLES A EVALUAR.....	25
4.7.1	Días a cosecha de semilla.....	25
4.7.2	Peso seco de la semilla botánica .....	25
4.7.3	Plántulas producidas.....	25
4.8	Diseño experimental.....	26
4.9	Análisis de resultados .....	27
5.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	28
5.1	Verificación de resultados de normalidad y residuos.....	28
5.1.1	Sexado de las variedades.....	28
5.1.2	Días a cosecha de semilla.....	29
5.2	Peso Seco de la semilla botánica .....	30
5.3	Plántulas producidas.....	32
5.4	Efecto de las soluciones nutritivas.....	34
5.5	Efectos de los cruzamientos .....	35
6.	CONCLUSIONES.....	37
7.	RECOMENDACIONES.....	38
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	39
9.	ANEXOS .....	43

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Índices de producción y rendimiento agroindustrial del sector azucarero costarricense en cinco zafras (2015-2020).....	9
<b>Tabla 2.</b> Variedades de caña de azúcar sembradas de forma comercial en las regiones cañeras de Costa Rica .....	10
<b>Tabla 3.</b> Soluciones nutritivas utilizadas en distintos centros de hibridación en caña de azúcar. ....	17
<b>Tabla 4.</b> Soluciones nutritivas (ppm) evaluadas en el proceso de hibridación de la caña de azúcar en la estación experimental DIECA-LAICA. ....	22
<b>Tabla 5.</b> Tratamientos evaluados en el proceso de hibridación de la caña de azúcar en la estación experimental DIECA-LAICA. ....	25
<b>Tabla 6.</b> Promedios de gránulos de polen en el sexado de tres variedades de caña de azúcar utilizadas en la prueba de soluciones nutritivas en la etapa de hibridación. ....	28

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama con el detalle de los tratamientos, según el diseño experimental utilizado y su ubicación de las unidades experimentales (capuchas) durante el periodo del ensayo, en la estación experimental DIECA.....	26
<b>Figura 2.</b> Resultados obtenidos en la variable días a cosecha en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar .....	29
<b>Figura 3.</b> Resultados obtenidos en la variable peso seco de la semilla en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar .....	31
<b>Figura 4.</b> Resultados obtenidos en la variable plántulas producidas por gramo en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar.....	33

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Validación gráfica del supuesto de normalidad y residuos para las variables días a cosecha, peso seco de la semilla y número de plántulas producidas en la prueba de soluciones nutritivas en diferentes cruzamientos en caña de azúcar. ....	43
<b>Anexo 2.</b> Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable días a cosecha.....	44
<b>Anexo 3.</b> Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable peso seco de la semilla botánica.....	44
<b>Anexo 4.</b> Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable plántulas producidas. ....	44
<b>Anexo 5.</b> Promedio de días a cosecha de las inflorescencias femeninas obtenido en la estación experimental DIECA durante las últimas seis etapas de cruzamientos. ....	45
<b>Anexo 6.</b> Peso seco de la semilla (gramos) obtenido en los cruzamientos realizados en la estación experimental DIECA durante los últimos seis periodos de hibridación. ....	45
<b>Anexo 7.</b> Sexado de las variedades de caña de azúcar utilizadas en la prueba de soluciones nutritivas..	45
<b>Anexo 8.</b> Cruzas biparentales de caña de azúcar a evaluar. ....	46

## 1. INTRODUCCIÓN

El mejoramiento genético de la caña de azúcar se realiza con el objetivo de encontrar nuevas variedades más productivas y tolerantes a las plagas y enfermedades, donde se tiene el criterio que mediante el mejoramiento genético se ha logrado un aumento del 50 % de los incrementos de producción agrícola y de azúcar (Caraballosa, Concepción y Quintanilla, 2015).

Para el caso de Costa Rica, el componente varietal disponible para los productores de caña de azúcar en la década de los 80 era muy limitado, debido a una serie de factores, siendo tal vez los de mayor importancia, la falta de continuidad que había sufrido la investigación con nuevas variedades de caña, a lo que se le sumó el ingreso al país de dos de las enfermedades más importantes en este cultivo, como lo son el carbón (*Sporisorium Scitamineum*) y la roya café (*Puccinia melanocephala*), las cuales vinieron a afectar algunas variedades que se cultivaban comercialmente en ese momento tales como L 60-14, NCo 310, B 43-62 entre otras (Durán, 2021).

Para atacar y buscar solución a esta problemática existente, se creó por parte de la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA) en 1982 el Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), quien desde sus inicios puso en operación el Programa de Variedades, el cual tenía como objetivo la obtención de variedades de alta productividad agroindustrial, que presenten resistencia a las principales plagas y enfermedades, aprovechando al máximo su potencial genético, al menor costo económico posible y con el menor efecto negativo al medio ambiente, recurriendo para esto a la diversificación y renovación varietal.

Este programa de variedades iniciado por DIECA operó por varios años mediante la adquisición de semilla verdadera (fuzz) procedente de México, Barbados y dos Estaciones de Brasil, donde se importaban 10 g de semilla por cruce y de 10 a 20 cruces de cada estación por año. Entre los años 1982 a 1998 se evaluaron un total de 300.282 plántulas, de las cuales se lograron seleccionar muy pocas variedades, siendo las más importantes: LAICA 85-653, LAICA 87-601 y LAICA 00-301 (Chaves, 2018; Durán y Oviedo, 2015).

A partir del año 1998 se hicieron los primeros 10 cruzamientos de prueba en el país, con el fin de ver si era posible obtener semilla sexual viable; donde los resultados obtenidos fueron satisfactorios, por lo que se le ha dado continuidad a este trabajo, lo que ha permitido que desde el año 2000 hasta la fecha, toda la semilla sexual utilizada en el programa de variedades ha sido obtenida mediante la hibridación efectuada en nuestro país. En el periodo que comprende del año 2000 al 2020, se trasladaron al campo un total de 661.531 plántulas, y se han seleccionado un total de 3.983 clones, los cuales se someten a un proceso de evaluación y selección, para ver si alguno de estos tiene las características para llegar a convertirse en una nueva variedad comercial.

Producto de este trabajo, actualmente existen en nuestro país un total de 6.563,6 hectáreas de caña de azúcar sembradas con variedades nacionales, lo que representa un 11,38% del área nacional, siendo las más importantes LAICA 04-809, LAICA 04-825, LAICA 01-604, LAICA 05-805, LAICA 04-250, LAICA 10-207, LAICA 12-340, LAICA 08-390, LAICA 07-801 y LAICA 08-361 (Durán y Oviedo, 2015).

El proceso conocido como hibridación o cruzamientos genéticos, tiene como objetivo reunir una serie de características buscadas en una variedad, las cuales se encuentran en diversos materiales comerciales o silvestres; donde estas combinaciones híbridas presenten nuevos genotipos que se adapten a los diversos ambientes, mediante la variabilidad genética y la selección de los mejores individuos por medio de técnicas de polinización y cruzamiento artificial (Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar (CENGICANA), 2012; González, 2019).

En Costa Rica el método para la realización de los cruces es el descrito por Abrantes (1996), en donde se realizan cruzamientos con ambos progenitores aislados utilizando faroles o capuchas, para evitar la mezcla de polen y que se presente únicamente la polinización entre los materiales elegidos. En este proceso la caña de azúcar es colocada en una solución nutritiva, lo que le permite mantenerse por largos periodos de tiempo. Esta solución aséptica está compuesta por ácidos no volátiles y volátiles, dentro de los no volátiles se encuentran los ácidos fosfórico, sulfúrico y nítrico, mientras que el ácido sulfuroso representa a los volátiles (Quintanilla, 2012; Sentíes-Herrera et al., 2016).

En el periodo de floración de la caña de azúcar se inicia el proceso de hibridación, realizando el armado y el establecimiento de los cruzamientos, los cuales son colocados en las casas de hibridación, mediante cruces biparentales y múltiples, para que se lleve a cabo la polinización y finalmente la obtención de semilla botánica (Fuzz), por un periodo entre 25 a 40 días. Las cañas se colocan en una solución nutritiva compuesta por ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico, así como una solución preservativa compuesta por ácido sulfuroso en una concentración de 150 ppm en la solución; la cual es aplicada cada día para estar rellenando el líquido absorbido por la planta, además del evaporado por el medio ambiente.

La solución nutritiva utilizada en el proceso de hibridación en la estación experimental DIECA, está compuesta por ácido sulfúrico (28 ppm), ácido fosfórico (14 ppm) y ácido nítrico (18 ppm), la misma no se ha modificado en ningún momento, y se ha utilizado en los 23 años que tiene el proceso de realizarse, debido a que se siguen los lineamientos del programa de mejoramiento genético de Cuba, y los resultados hasta el momento se califican como favorables. Revisando

información, se determinó que las proporciones de esta solución nutritiva han cambiado en distintos países, precisamente en la búsqueda de mejores resultados en la obtención de una mayor cantidad de semilla sexual (fuzz) y por ende una obtención superior de plántulas disponibles para llevar a campo.

En estudios realizados por Carballoso et al (2015) probaron tres proporciones distintas de la solución nutritiva, utilizando la de origen cubano, la de Mauricio y la australiana, y encontraron una mayor germinación mediante la solución australiana. Esta publicación puso en duda, si la solución nutritiva utilizada en la estación experimental DIECA es la adecuada, o si podrían encontrarse mejores resultados modificando la solución, ya que los mismos cubanos han valorado otras mejores.

Por lo anterior, se ha decidido valorar el efecto de distintas soluciones nutritivas bajo el sistema de hibridación de caña de azúcar que se realiza en el país, por lo que se consultó a distintos centros de investigación para conocer cual solución nutritiva utilizan. Con base en esas consultas se encontró que en Guatemala y México utilizan una solución compuesta por ácido sulfúrico (14 ppm), ácido fosfórico (29 ppm) y ácido nítrico (17 ppm) (J. Queme, comunicación personal, 21 de abril de 2021; C. Flores, comunicación personal, 20 de abril de 2021); en Brasil, Australia y Ecuador utilizan una solución compuesta por ácido sulfúrico (38 ppm), ácido fosfórico (75 ppm) y ácido nítrico (38 ppm) (E. Silva, comunicación personal, 13 de abril de 2021); siendo muy distintas a la utilizada en Costa Rica.

El proceso de mejoramiento genético de la caña de azúcar debe continuar con la búsqueda de mejoras técnicas que permitan nutrir adecuadamente a los materiales durante el proceso de hibridación, con el fin de lograr un buen desarrollo y viabilidad de la flor durante la etapa de cruzamientos, para así aumentar la producción de semilla botánica (Fuzz) y mejorar la producción de plántulas, lo que viene a contribuir en el proceso de selección de variedades nacionales sigla LAICA.

## **2. OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Evaluar el proceso de hibridación de la caña de azúcar utilizando soluciones nutritivas y cruzamientos con el fin de obtener una mayor cantidad de semilla botánica (fuzz) en el programa de mejoramiento genético de caña de azúcar en LAICA, Costa Rica.

### **ESPECÍFICOS**

- Comparar tres soluciones nutritivas y dos cruzamientos biparentales durante la etapa de hibridación de la caña de azúcar.
- Determinar la calidad de la semilla mediante pruebas de producción de plántulas en dos cruces de caña de azúcar.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 Generalidades del cultivo de caña de azúcar

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es una planta monocotiledónea, de rápido crecimiento que se cultiva en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, con la capacidad de almacenar en sus tallos grandes concentraciones de sacarosa y es considerada como la mayor fuente de producción de azúcar superando a la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.). Este cultivo es sin duda la más importante fuente para la producción de energía, además de poder obtener una gran cantidad de subproductos como alcohol, fibras (papel, cartón y plástico) y una alternativa de gran relevancia en la alimentación animal (Molina, 2016; Morais et al., 2015).

Comercialmente la caña se ha cultivado en cuatro continentes: Asia, América, África y Oceanía, ubicados entre los paralelos 37° Norte a 31° Sur, lo que representa “límites geográficos del cultivo comercial de la caña de azúcar” marcando con ello una amplia escala de adaptación que involucra todo tipo de condiciones (Chaves, 2014)

Según los datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT, 2021) para el año 2019 se encontraban en el mundo un total de 26,77 millones de hectáreas cultivadas con caña de azúcar, siendo América el principal productor con un 51,39%, seguido de Asia con un 40,94%, África 5,90%, Oceanía 1,77% y Europa no reporta área con caña de azúcar para el año 2019. En el Continente Americano casi todos los países siembran caña y producen azúcar en diferente cantidad y relevancia, a excepción de Canadá y Chile (Chaves, 2014). La caña se cultiva principalmente en Brasil que cuenta con el 73,26%, seguido de México 5,78%, Argentina 3,46%, Colombia 3,33%, Estados Unidos 2,69%, Guatemala 1,96%, Cuba 1,52%, como los países de mayor producción (FAOSTAT, 2021).

#### 3.2 Taxonomía de la caña de azúcar

La caña de azúcar pertenece al género *Saccharum*, de la sub-tribu *Saccharinae*, tribu *Andropogoneae* en la familia de las gramíneas (*Poaceae*). Dentro de este género hay incluidas seis especies de las cuales dos son salvajes (*S. spontaneum* L. y *S. robustum* Brandes y Jewiet ex Grassl) y las otras cuatro se cultivan y clasifican de diversas formas (*S. officinarum* L, *S. barberi* Jeswiet, *S. sinense* Roxb. y *S. edule* Hassk) (Moore, Paterson y Tew, 2014).

*Saccharum officinarum* L. (2n = 80) es originaria de Nueva Guinea, de donde se extendió a Indonesia, Indochina, Burma, India y otros lugares y es conocida como caña “noble”. Se caracteriza por su alto contenido de sacarosa, tallos gruesos y pesados, con bajo contenido de fibra y altura media. Los entrenudos son cortos, en forma de barril, hojas anchas y se desprenden con facilidad. Son exigentes de clima y suelo, también muy susceptible a enfermedades (Subiros, 1995). Se presume que ésta fue la especie descrita por Linneo en el año 1753 cuando se transformó en la base de la expansión de la agroindustria azucarera en el hemisferio occidental. Por sus

características, fue y constituye en la actualidad la base de los programas de mejoramiento genético mundial de la caña. La especie agrupa las denominadas y bien ponderadas “Cañas Nobles”, entre las que pueden nombrarse como más destacadas por su antecedente productivo, las siguientes: Caña Criolla (Black Cheribón), Otaheite (Bourbon, Blanca de Castilla, Lahaina o Habanera); otras nobles reconocidas son la Morada, Cristalina, Yellow Caledonia o Tanna y Badila (Chaves, 2014).

***Saccharum barberi* Jeswiet** ( $2n = 82-124$ ) originaria de la India, se caracteriza por su rusticidad y su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y difíciles, además de un sistema radical muy desarrollado; poseen alta fibra, bajo contenido de sacarosa, tallos de grosor delgado a medio, entrenudos son largos de forma cilíndrica, con secciones corchosas en la superficie de los entrenudos; las hojas son cortas y de lámina angosta. En consideración de poseer una escasa floración y baja fertilidad del polen, limita su empleo en los programas de mejora genética. Como clones tipo se citan la Chune que fue cruzada con las Cheribón de Java, generando los híbridos POJ 36, POJ 213 y POJ 214, entre otros (Chaves, 2014; Moore et al., 2014; Subiros, 1995).

***Saccharum sinense* Roxb.** ( $2n = 88$ ) originaria de China e India, se caracteriza por tener tallos altos, de grosor medio, alto contenido de fibra y es pobre en sacarosa, de hojas angostas y vainas muy adheridas fuertemente al tallo, tolerantes a condiciones ambientales difíciles y también al ataque de plagas y enfermedades, se les considera casi inmunes al virus del mosaico. Su biotipo representativo es la reconocida variedad Uba, todavía cultivada en algunas zonas de China, Taiwán y Japón, y también se sembró en Costa Rica durante muchos años. La especie cuenta adicionalmente con la ventajosa propiedad agronómica de perdurar en el campo sin corta, por más tiempo del previsto, sin que esto afecte ni dañe la cepa (Chaves, 2014; Subiros, 1995).

***Saccharum edule* Hassk.** ( $2n = 60$  u  $80$  a veces hasta  $122$ ), se caracteriza por una baja cantidad de fibra y pobre en sacarosa, tiene una inflorescencia abortada y comestible y se cultiva desde Nueva Guinea hasta Fiji. Basándose en su distribución geográfica y morfología vegetativa, se propuso que *S. edule* sea un híbrido intergenérico entre *S. officinarum* o *S. robustum* y un género relacionado, o que sea un mutante de cualquiera de estas especies. Sin embargo, los datos moleculares ahora indican que *S. edule* puede ser una serie de clones mutantes seleccionados de poblaciones de *S. robustum* y preservados por humanos (Moore et al., 2014).

Entre las especies silvestres, ***S. spontaneum* L.** ( $2n = 40-128$ , con números de cromosomas frecuentemente como múltiplos de ocho) es muy variable en morfología, citología y distribución geográfica a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales desde África hasta el Medio Oriente, China, y Malasia, a través del Pacífico hasta Nueva Guinea. Las accesiones de *S. spontaneum* exhiben secuencias de ADN fenotípicas, citológicas, citoplasmáticas y nucleares que son bastante diferentes de las de otras especies de *Saccharum*. Se caracteriza por ser una hierba perenne, desde

tipos arbustivos cortos sin tallo, hasta clones de tallo grande de más de 5 m de altura, pero típicamente con tallos delgados como un lápiz, muy bajo contenido de sacarosa, alta en fibra y sistema radical muy desarrollado. Esta especie es por lo habitual la que acompaña a *S. officinarum* en los programas de mejora genética en la creación de clones comerciales promisorios (proceso de nobilitación POJ 2878, NCo 310, B 43-62), ya que se adapta bastante bien cuando existe sequía, resistente a enfermedades, tolera el frío y es capaz de desarrollarse en condiciones adversas. Comprende a todas las variedades silvestres o salvajes existentes en las islas del pacífico-sur de Asia y está formado por un grupo heterogéneo de cañas no bien desarrolladas que incluyen las pertenecientes a *S. spontaneum* de Java (glagah) y *S. spontaneum* de India (Chaves, 2014; Flores, 2001; Moore et al., 2014; Subiros, 1995).

La otra especie silvestre es ***Sacharum robustum Brandes & Jesw.***, (dos citotipos predominan como  $2n = 60$  u  $80$ , pero con algunas accesiones que tienen números de cromosomas tan altos como 194) tiene su centro de diversidad en Nueva Guinea. Se caracteriza por tallos gruesos, de gran porte, vigorosa, alto contenido de fibra, bajo de sacarosa y muy susceptible al virus del mosaico. Se distingue de *S. spontaneum*, pero similar a *S. officinarum*, por la falta de rizomas, el grosor y la altura de los tallos e inflorescencias más grandes (Moore et al., 2014; Subiros, 1995). El programa de mejora genética hawaiano las utilizó mucho buscando incorporar altos rendimientos de caña y alta fibra en sus clones comerciales. Se le ha empleado en programas de mejoramiento genético con resultados calificados como poco satisfactorios, destacando la variedad de origen hawaiano H 37-1933, de amplio cultivo en las zonas altas de Costa Rica hace algunas décadas (Chaves, 2014).

Además de estas especies, diversos investigadores revisaron el género *Saccharum* basándose en datos fitogeográficos, morfología, citología y pruebas de reproducción para combinar el género con otros cinco géneros y fue llamado el complejo *Saccharum*, el cual está compuesto por *Saccharum*, *Erianthus* sección *Ripidium*, *Miscanthus* sección *Diandra*, *Narenga* y *Sclerostachya*. Estos géneros se caracterizan por altos niveles de poliploidía (poliploides tienen más de dos juegos de cromosomas) y número cromosómico con frecuencia desbalanceado (aneuploidía), haciendo difícil su determinación taxonómica, lo cual ha resultado en muchas revisiones previas de sus relaciones taxonómicas (Molina, 2016; Moore et al., 2014).

### 3.3 Origen

Se cree que el centro de origen de *S. officinarum* está en una vasta área del sureste asiático, incluido el archipiélago malayo, Nueva Guinea, India y algunos de los grupos de islas de Melanesia, donde se cultivó como jardín desde 8000 a. C.; donde se supone que *S. officinarum* evolucionó a partir de la selección de formas dulces de *S. robustum*, en el que es posible que las cañas cuando eran utilizadas para la construcción de viviendas, cercas y tiro con arco; se pudo dar

una selección con la ayuda de animales como cerdos o ratas que se sintieron atraídos por plantas individuales más dulces (Moore et al., 2014; Office of the Gene Technology Regulator (OGTR), 2011)

Su cultivo se extendió a lo largo de las rutas de migración humana hacia el sudeste asiático, India y el Pacífico, hibridando con cañas silvestres. Llegó al Mediterráneo hacia el 500 a.C. y desde allí se extendió a Marruecos, Egipto, Siria, Creta, Grecia y Sicilia, los principales productores hasta el siglo XV, seguido de la introducción en África Occidental y posteriormente a América. Cristóbal Colon en su segundo viaje realizado a América, en 1493, introdujo la caña en la isla La Española, que es hoy República Dominicana y Haití.; y de esta isla se difundió hacia Cuba, Puerto Rico, México, Colombia, Perú y el resto de los países del continente. La caña de azúcar que se dispersó a través del Mediterráneo hacia el Nuevo Mundo fue el cultivar indio conocido como “Creole” por los franceses, “Criola” en español o “Crioula” en portugués, que, según los investigadores, esta caña “criolla” era en realidad *Saccharum barberi* (Molina, 2016; OGTR, 2011; Subiros, 1995).

El cultivo de “Creole” fue rápidamente reemplazado por el cultivar noble “Otahiti” cuando Bligh lo introdujo a Jamaica proveniente de Tahití en 1793. De ahí fue distribuido a través del Caribe y las Américas. Las cañas nobles originales recolectadas de las islas del Pacífico rápidamente reemplazaron a las variedades de la India menos productivas y fueron la única fuente de cultivares para las plantaciones, por más de cien años, para la producción mundial de azúcar. Antes de que los programas de mejoramiento de caña de azúcar comenzaran, los cultivares nobles más importantes fueron “Otahiti” (“Bourbon”, “Lahaina”) de Tahití, “Cheribon” (“LouisianaPurple”) de Java y “Caledonia” de las Nuevas Híbridas. “Bourbon” fue extremadamente susceptible a la pudrición de raíz, el mosaico y la enfermedad gomosa, “Cheribon” al sereh, mosaico y pudrición radicular y “Caledonia” al mosaico. Estos cultivares iniciales fueron reemplazados por nuevos híbridos seleccionados por los programas emergentes de mejoramiento de caña de azúcar resistentes a estas enfermedades (Moore et al., 2014).

### **3.4 La caña de azúcar en Costa Rica**

Se estima que la caña de azúcar llegó a Costa Rica en el año de 1530 por medio de Pedrarias Dávila, en uno de sus viajes. Los primeros informes mencionan la existencia de pequeños trapiches a partir de mediados del siglo XVI (Subiros, 1995). Actualmente, la caña de azúcar se califica como uno de los cultivos más importantes para nuestro país, el cual se encuentra como el tercer cultivo permanente más sembrado en Costa Rica con 65.060,0 hectáreas según el censo agropecuario, el cual abarca su uso para producción de azúcar, tapa de dulce o trapiche y producción animal, ubicándose únicamente por debajo de cultivos como el café y la palma aceitera que lo superan en área (Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), 2015).

Para el caso de producción de caña para la obtención de azúcar, actualmente se encuentran un total de 64.249 hectáreas, distribuidas en seis regiones cañeras de Costa Rica, las cuales son Región Guanacaste con un 54,8%, Región Norte con un 15,3%, Región Puntarenas con un 8,76%, Región Valle Central con un 6,54%, Región Turrialba con un 7,64% y la Región Sur con un 7,02%. La caña de azúcar se cultiva en 6 provincias, 29 cantones y 121 distritos de nuestro país por un total de 7.078 productores cañeros-azucareros y aporta 58.000 empleos directos e indirectos y con 11 ingenios azucareros activos (Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), 2021). La producción de azúcar de nuestro país en las últimas cinco zafras ronda las 7,87 toneladas de azúcar por hectárea, con un rendimiento industrial de 105,86 kilogramos de azúcar por tonelada métrica de caña, como se detalla en la tabla 1 (Chaves, 2021).

**Tabla 1.** Índices de producción y rendimiento agroindustrial del sector azucarero costarricense en cinco zafras (2015-2020)

Zafra	Área (Ha)		Toneladas de Caña procesada	Toneladas de Azúcar fabricada	Rendimientos Agrícola (t/Ha)	Rendimientos		
	Sembrada	Cosechada				Industrial 96° Pol (Kg/t)	Azúcar (t/ha)	Melaza (Kg/t)
15-16	65.485	58.225	4.396.458	445.998,2	75,51	101,44	7,66	46,14
16-17	64.250	56.355	4.343.890	452.160,0	77,08	104,09	8,02	41,59
17-18	60.000	55.070	4.054.141	431.109,0	73,62	106,34	7,83	36,84
18-19	62.630	54.548	4.025.447	442.187,4	73,80	109,85	8,11	40,89
19-20	62.604	56.689	4.092.123	440.393,2	72,19	107,62	7,77	39,23

**Fuente:** Chaves, 2021.

La agroindustria azucarera en Costa Rica posee una alta variabilidad en sus condiciones y características edafoclimáticas, rendimientos industriales, participación social, organización y potencial productivo, lo que provoca una alta cantidad de entornos productivos muy diferentes expresados en micro climas muy particulares, aún dentro de una misma región. Existen plantaciones que van desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm, cosechas desde los 12 hasta los 24 meses, precipitaciones entre 1700-3200 mm por año, ordenes de suelo variados como Vertisoles, Molisoles, Inceptisol, Entisoles, Alfisoles, Ultisol y Andisoles con grandes diferencias en la fertilidad del suelo. En cuanto al relieve va de plano ha quebrado con pendientes de 0 hasta 35%, donde las temperaturas máxima-mínima promedio fluctúan entre 35 y 13 °C (Chaves y Chavarría, 2013).

Estas condiciones tan heterogéneas entre las regiones cañeras también se demarcan en el caso de las variedades de caña de azúcar que son sembradas comercialmente (tabla 2), donde se puede observar que los materiales en su mayoría varían de una región a otra, esto debido a los factores bióticos y abióticos presentes en cada región. Es sumamente importante buscar siempre mejores materiales genéticos para la producción de caña y la fabricación de azúcar. Esta tarea resulta ser una labor estratégica en la gestión desarrollada por DIECA, para lo cual se mantienen

como elementos principales un proceso sistemático y continuo para encontrar nuevos materiales que vengan a reemplazar a las variedades salientes, además de desarrollar variedades de mayor producción (Chaves et al., 2020).

**Tabla 2.** Variedades de caña de azúcar sembradas de forma comercial en las regiones cañeras de Costa Rica

Región Guanacaste	Región Puntarenas	Región Norte	Región Valle Central	Región Turrialba	Región Sur
CP 72-2086	CP 72-2086	PR 80-2038	RB 86-7515	B 76-259	LAICA 05-805
B 82-333	B 82-333	B 77-95	MEX 79-431	LAICA 04-250	LAICA 04-809
NA 85-1602	CP 72-1210	LAICA 01-604	LAICA 04-809	H 77-4643	LAICA 04-825
SP 81-3250	CP 14-1518*	LAICA 12-340	SP 78-4764	B 77-95	LAICA 07-801
RB 86-7515	NA 85-1602	LAICA 08-390	Q 96	LAICA 07-203	CP 87-1248
LAICA 00-301	RB 86-7515	LAICA 10-207	LAICA 12-340		RB 98-710
LAICA 08-361					LAICA 04-44
MEX 79-431					

**Fuente:** (Chaves et al., 2020)

(\* variedad confusa)

### 3.5 Mejoramiento genético de la caña de azúcar

La caña de azúcar moderna (*Saccharum* spp.) es genéticamente un cultivo muy complejo, ya que son altamente poliploides (~12x) y aneuploides con ~120 cromosomas; y estos son derivados esencialmente de cruces interespecíficos entre *S. officinarum* ( $2n=8x=80$ ) una especie domesticada productora de azúcar, con *S. spontaneum* ( $2n=5x=40$  a  $n=16x=128$ ), sin embargo, se han utilizado como progenitores otras especies de *Saccharum* (CENGICAÑA, 2012; Moore et al., 2014).

Un análisis de los padres utilizados en los programas de mejoramiento genético determinó que dos clones de *S. sinense*, *S. barberi* y *S. robustum*, 19 clones de *S. officinarum* y “algunos” clones de *S. spontaneum* habían estado involucrados en el mejoramiento de los cultivares comerciales disponibles en ese momento. Otros autores han sugerido que los cultivares modernos se basan en solo 20 clones de *S. officinarum* y menos de diez derivados de *S. spontaneum* (OGTR, 2011). Según Moore et al. (2014) el ADN genómico total sugiere que del 10 al 20% de los cromosomas de los cultivares modernos se heredan en su totalidad de *S. spontaneum*; 70 a 80% son heredado completamente de *S. officinarum*; y alrededor del 10% son el resultado de la recombinación entre cromosomas de las dos especies ancestrales.

Los híbridos interespecíficos, en especial aquellos que involucran *S. officinarum* como el parental materno y *S. spontaneum* como el parental paterno, tienen un número triploide (AAB) de cromosomas relativo a sus parentales, por ejemplo, cruzando *S. officinarum* ( $2n=10x=80$ ) por *S. spontaneum* ( $2n=8x=112$ ), produce híbridos con  $2n=136$  cromosomas (40+40 de *S. officinarum*, más 56 de *S. spontaneum*;  $2n+n$ ). Para minimizar los efectos negativos provenientes de *S.*

spontaneum, y retener la habilidad de alta retención de sacarosa en *S. officinarum*, una serie de cruces fueron desarrolladas entre los híbridos interespecíficos y los parentales de *S. officinarum* (retro cruzamiento). Este proceso condujo a la “nobilización” de híbridos *Saccharum* spp. Este fenómeno facilitó el mejoramiento de los cultivares de caña de azúcar modernos, ya que las cualidades "officinarum" se recuperaron más rápidamente en los híbridos, por lo que se requirieron menos rondas de retro cruzamiento para producir cultivares con alto contenido de sacarosa (CENGICAÑA, 2012; OGTR, 2011).

Los primeros programas de mejoramiento comenzaron en Java y Barbados en 1888, tras comprobar que la caña de azúcar era capaz de producir semilla viable. Las variedades producidas por la Proefstation Oost Java, identificadas como variedades POJ, resultaron fundamentales para el desarrollo de germoplasma en otros países, los cuales rápidamente establecieron sus propias estaciones de mejoramiento para producir variedades adaptadas localmente. Dentro de los esfuerzos notables por producir variedades de amplia adaptación destacó Coimbatore, India (1912), que desarrolló las variedades Co y NCo (Moore et al., 2014). La hibridación entre *S. officinarum* y *S. spontaneum* culminó con el lanzamiento de un cultivar llamado POJ 2878 ('Java Wondercane') en 1921 en Java (Indonesia), que se convirtió en un cultivar importante, lo que permitió un aumento del 35% en la producción de azúcar con respecto a los anteriores mejores cultivares. Un estudio de 40 variedades comerciales cultivados en todo el mundo mostró una similitud genética promedio del 61% (OGTR, 2011).

Los destrozos causados por enfermedades en Java motivaron a los holandeses a encontrar medidas de control, lo que resultó en programas de mejora y selección que fueron los precursores de los exitosos programas de mejoramiento actuales, ya que este medio es considerado como el método principal para el control de enfermedades (Molina, 2016; Morais et al., 2015).

Los incrementos en producción desde el siglo XIX se han asentado en un continuo abastecimiento de cultivares mejorados que satisfacen los requerimientos de las industrias azucareras alrededor del mundo. La mayoría de estas industrias financia programas de mejoramiento para incrementar su productividad, mediante el incremento directo del rendimiento de azúcar, a través del incremento en el rendimiento de caña y de contenido de azúcar (Molina, 2016).

### **3.6 Floración**

La floración es catalogada como deseable para el proceso de mejoramiento genético pero indeseable para los productores de caña por la pérdida de tonelaje en los cañales. En los programas de mejoramiento, el control de la floración es fundamental para el desarrollo de nuevas variedades, debido a que permite el cruzamiento entre variedades sobresalientes para las características agronómicas de interés (Silva, Martínez, Madrid y León, 2013).

La caña de azúcar presenta dos fases de desarrollo, la vegetativa originada por la división celular en los puntos de crecimiento y la reproductiva o floración (Amaya, Cock, Hernández y Irvine, 1995). La floración o fase reproductiva es un fenómeno natural por medio del cual se suspende e inhibe la formación de primordios foliares de crecimiento; en tanto, que el primordio floral activa su desarrollo reproductivo. Para que este proceso biológico sea posible, es necesario que en las plantas incidan factores bióticos y abióticos internos y externos, tales como: fotoperiodo, temperatura ambiente, humedad del suelo, sensibilidad de la variedad, hormonas, edad fisiológica, altitud (msnm), manejo agronómico de la plantación, entre otras. Esta suma de factores demuestra que la floración es un proceso complejo, sensible y de especial cuidado, principalmente cuando se desea inducir o en su caso inhibir la emisión de flor (Carvajal, Vargas, Duran y Chaves, 2019).

### **3.7 Biología floral**

La inflorescencia de la caña de azúcar es una panícula sedosa en forma de espiga, con terminal abierta, ramificada con muchas espiguillas, por lo que se dice que la inflorescencia de la caña es por estructura una “flor de flores”. Está constituida por un eje principal (raquis) con articulaciones en las cuales se insertan las espiguillas, una frente de la otra; estas contienen una flor hermafrodita con tres anteras y un ovario con dos estigmas. Cada flor está rodeada de pubescencias largas que le dan a la inflorescencia un aspecto sedoso. En cada ovario hay un ovulo el cual, una vez fertilizado, da origen al fruto o cariósipide. Por lo tanto, lo que comúnmente se conoce como semilla es una cariósipide. El fruto es de forma ovalada de 0,5 mm de ancho y 15 mm de largo aproximadamente. El tamaño, forma y color de la inflorescencia es variable según la especie y variedad de caña; pudiendo alcanzar hasta un metro de longitud. La caña es una planta alógama que tolera la autofecundación, su flor es bisexual (hermafrodita), ocasionalmente presenta auto esterilidad (Amaya et al., 1995; Chaves, 2017).

### **3.8 Hibridación de la caña de azúcar**

Hasta finales del siglo XIX se asumía generalmente que la caña de azúcar era incapaz de la reproducción sexual, por lo que la propagación vegetal fue la única forma de diseminarla. El primer indicio de fertilidad del polen en caña de azúcar fue reportado por J. W. Parris de Highland Plantation, Barbados (1858), que había logrado cultivar hasta la madurez algunas plántulas de caña de azúcar que había aparecido como voluntaria en uno de sus campos y de las cuales ninguna presento ser iguales al padre, pero este trabajo quedó en el olvido (González, 2019; Heinz y Tew, 1987).

En el año 1885 en Java, Soltwedel comenzó un estudio de los órganos reproductivos en *S. spontaneum* y encontró que el polen era en apariencia normal y logró polinizar la misma especie y obtuvo germinación de plántulas. En 1888, en Barbados J. B. Pilgrim, observó plántulas jóvenes de caña de azúcar creciendo cerca de una prueba de campo que contiene una serie de variedades y

para el año 1889 en Barbados, J. B. Harrison y John Bovell, decidieron recolectar la parte superior de la flor de caña de azúcar, la cual germinó y de esta forma obtuvieron las primeras plántulas por medio de la reproducción sexual (Heinz y Tew, 1987).

Después de que se confirmó la fertilidad en la caña de azúcar, se iniciaron los primeros programas de mejoramiento genético en Java, Barbados, Guayana Británica (Demerara), Reunión, Queensland y Mauricio durante la década de 1890. Se comenzó a realizar las primeras hibridaciones entre diferentes especies del género *Saccharum*, las que produjeron híbridos F1 que fueron sometidos a sucesivas nobilizaciones para originar las primeras variedades modernas de caña de azúcar provenientes de cruces interespecíficos entre las especies *S. officinarum* y *S. spontaneum* (González, 2019; Heinz y Tew, 1987).

### **3.8.1 Métodos de hibridación**

Los primeros trabajos de hibridación consistieron en la recopilación de panículas fecundadas libremente en el campo, donde los resultados dependían, en gran medida del progenitor que producía la semilla y de la proximidad de progenitores masculinos. Luego en Java, comenzaron a emplearse como progenitores femeninos, las variedades que producían poco o ningún grano de polen fértil, situándolas en forma de tablero de ajedrez junto a variedades seleccionadas como productoras de granos de polen fértil. Posteriormente, el proceso de hibridación empezó a especializarse mediante el uso de áreas de cruzamientos, utilizando bolsos de tela o linternas de cristal para dirigir el cruce, aislando los progenitores en el campo; hasta llegar a lograr conservar los tallos cortados vivos mediante la técnica hawaiana (Pérez, De Prada, Chinae, Bernal y O'Reilly, 1997).

A continuación se describen las principales técnicas de hibridación utilizadas en caña de azúcar:

### **3.8.2 Método de Coimbatore o cruzamiento “in situ”**

Los primeros cruzamientos de mejora se apoyaron fundamentalmente en esta técnica, principalmente utilizada en la India, aunque también se practicó en Barbados, Mauricio y Formosa; donde se situaba el progenitor femenino en un surco con el masculino a ambos lados. Las panículas adyacentes se unían y se separaban los cruzamientos mediante esterillas de bambú que se situaban entre combinaciones para prevenir la contaminación del polen, posteriormente para separar las combinaciones se construyeron bolsos de telas que se situaban donde se lograban ambas panículas juntas (Abrantes, 1986; Heinz y Tew, 1987)

### **3.8.3 Cruzamiento con un progenitor aislado**

Este método consiste en mantener la panícula femenina en el campo, la cual se aísla por medio de una capucha u otro método (cristal, tela o nylon). La inflorescencia masculina se coloca dentro de la misma capucha y el tallo se sitúa en un frasco de agua, la cual se debe ser cortada en horas

de la tarde con el fin de que las anteras maduras se abran y expulsen los granos de polen. Esta técnica tiene como inconveniente que diariamente hay que reponer las panículas (Abrantes, 1986).

#### **3.8.4 Cruzamiento con ambos progenitores aislados**

Se cuenta con dos métodos fundamentales para desarrollar los cruzamientos con ambos progenitores aislados: la técnica del margullo y la solución hawaiana. Ambas han permitido diversificar las formas de cruzamientos, ya que los progenitores pueden ser situados bajo las condiciones con que se cuenta para efectuar los mismos (Abrantes, 1986; Heinz y Tew, 1987)

#### **3.8.5 Técnica del margullo**

El margullo se utilizó por primera vez en la India según Venkatraman y Thomas (1926) citado por Heinz y Tew (1987) y es ahora un método muy utilizado por la mayoría de programas de mejoramiento genético. Esta técnica fue muy utilizada principalmente en los tallos femeninos especialmente con materiales de la especie *S. officinarum*, donde se lograba una mayor cantidad de semilla de verolís (fuzz) por panícula (Heinz y Tew, 1987).

Esta técnica favorece el desarrollo completo de la inflorescencia permitiendo que estas puedan ser trasladadas para el lugar más conveniente; su desventaja es que resulta necesario efectuarlo antes de conocer los tallos con posibilidades de florecer, trayendo como resultado que un porcentaje de los tallos no sean utilizados. La técnica consiste en acodar dos o tres nudos en el tercio medio o superior de la caña mediante una bolsa de polietileno, en la cual se le agrega suelo, peat moss, aserrín, cachaza, o algún material orgánico en proporciones iguales, la cual le permita la retención de humedad, y la presencia de raíces de las yemas dándole una forma de aporte de nutrientes a la caña, posibilitando su desarrollo floral (Abrantes, 1986).

#### **3.8.6 Técnica del ácido sulfuroso o solución hawaiana**

Es la técnica de mayor uso actualmente, la cual permite la conservación de los tallos utilizando ácido sulfuroso y otros donde se mantienen las inflorescencias en solución durante varias semanas. La solución fue desarrollada en el año 1924 por la estación experimental de cultivadores de caña de azúcar en Hawái (HSPA) o en inglés (Hawaiian Sugar Planters' Association) la cual fue descrita por Verret et al., (1925) citado por Heinz (1987). La misma consiste en cortar todo el tallo desde la base hasta la flor y llevar estos a la casa de cruzamientos e ingresarlos en la solución nutritiva durante todo el tiempo de realización del cruzamiento.

#### **3.8.7 Soluciones nutritivas basadas en ácido sulfuroso**

Una solución nutritiva consta de agua con oxígeno y de todos los nutrimentos esenciales en forma iónica y, es esencial que la solución nutritiva tenga la proporción adecuada, necesaria para que las plantas absorban los nutrimentos; en caso contrario, se produce un desequilibrio entre los nutrimentos (Favela, Preciado y Benavides, 2006).

Para el caso del desarrollo de los programas de hibridación de caña de azúcar se ha generalizado el uso de la técnica del ácido sulfuroso o hawaiana para la conservación de tallos florales, la cual fue desarrollada bajo la coordinación del agrónomo J. A. Verret en 1924 en la Estación Experimental HSPA, siendo utilizada ampliamente (Heinz y Tew, 1987).

Verret realizó pruebas con más de 100 soluciones que contienen varios tipos de conservantes, y alcanzó conclusión de que las soluciones que contienen entre 2.000 y 5.000 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre, mantuvo los tallos cortados durante varias semanas hasta la formación y maduración de las semillas (Diniz, 2016). Además Verret determinó que la solución, conocida como Hawaiana, estaría compuesta por agua de lluvia más ácidos no volátiles, tales como: 75,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 37,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), 37,0 mg kg<sup>-1</sup> en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); y adición de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) (Heinz y Tew, 1987).

La función del ácido sulfúrico es disminuir el pH y los bicarbonatos en el agua y aumenta los sulfatos, permitiendo la biodisponibilidad de macroelementos secundarios como el Mg y S y de microelementos como el Fe, Mn, Cu y Zn (Dávila, 2019).

El ácido fosfórico tiene como función acelerar la maduración y promover la producción de semillas, es parte importante de numerosos compuestos fundamentales en el metabolismo vegetal, tales como biosíntesis de glúcidos, biosíntesis de lípidos, síntesis de clorofilas y carotenoides, glucólisis y metabolismo de los ácidos orgánicos; además de fortalecer el sistema radical fomentando la extensión de las raíces y su ramificación lateral (Mixquititla-Casbis y Villegas-Torres, 2016).

El ácido nítrico tiene un uso en agricultura como acidificante de soluciones (Mixquititla-Casbis y Villegas-Torres, 2016). El nitrógeno como mineral juega un papel muy importante en el cambio del estado de la fase desarrollo vegetativo a la reproductiva, por lo que si este no se suprime en determinado período la caña de azúcar continúa su crecimiento y no florece. Pero en la etapa de hibridación o floración posterior, el nitrógeno juega un rol importante en la formación de la semilla, por lo que su uso en la solución nutritiva durante el cruzamiento es vital para lograr obtener un desarrollo adecuado de la semilla, recomendándose continuar su uso al formarse la flor (Quintanilla, 2012).

#### **3.8.7.1 Manejos de la solución nutritiva**

La HSPA (Hawaiian Sugar Planters' Association) prepara una solución concentrada y para luego realizar una mezcla a granel cambiando solución con frecuencia y reponiendo diariamente en una instalación de paso protegido, es así que se logra mantener la viabilidad de las inflorescencias por hasta ocho semanas en algunas variedades (Heinz y Tew, 1987).

En Guatemala (Cengicaña) y en Mexico (CIDCA) utilizan la solución 29,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 17,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) y 14,0 mg kg<sup>-1</sup> en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); y adición de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) (J. Queme, comunicación personal, 21 de abril de 2021; C. Flores, comunicación personal, 20 de abril de 2021). Para el caso de Guatemala los días lunes y viernes utilizan toda la solución nutritiva (ácidos volátiles y no volátiles) y los miércoles únicamente el ácido volátil (ácido sulfuroso) a una concentración de 150 ppm. En México se realiza una reposición normal los días martes, miércoles, jueves y viernes y se cambia la solución total en los cruzamientos ya establecidos se realiza los días lunes y sábado, con el objeto de mantener la concentración de 150 ppm (C. Flores, comunicación personal, 20 de abril de 2021).

En Cuba se utiliza la solución 24,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 25,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), 51,0 mg kg<sup>-1</sup> en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); y adición de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) (Caraballos et al., 2015).

En el caso de Costa Rica la solución 14,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 18,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), 28,0 mg kg<sup>-1</sup> en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); y adición de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), siendo la solución nutritiva anteriormente utilizada en Cuba, la cual se ha mantenido por 23 años en la estación experimental DIECA.

En Ecuador en el CINCAE utilizan la solución 75,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 38,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), 38,0 mg kg<sup>-1</sup> en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); y adición de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) siendo la misma utilizada por Brasil y Australia. En este centro de investigación realizaron pruebas para validar esta solución aunque no se publicó la información (E. Silva, comunicación personal, 13 de abril de 2021).

Algunos resultados indican que la técnica del ácido sulfuroso, muy exitosa en Hawái, ha provocado resultados diferentes en otras latitudes, donde las variedades presentan diferencias en la tolerancia hacia la solución ácida. En la India la solución se volvió rápidamente tóxica, en Barbados sólo fue efectiva con el empleo de agua de lluvia, en Luisiana el alto contenido de sodio en el agua redujo su efectividad y en Mauricio y África del Sur el método fue insatisfactorio (Heinz y Tew, 1987; Quintanilla, 2012). Esto pudo haber traído las modificaciones que se han realizado en los centros de investigación como se pueden observar en la tabla 4.

**Tabla 3.** Soluciones nutritivas utilizadas en distintos centros de hibridación en caña de azúcar.

Solución utilizada	Ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Ácido nítrico (HNO <sub>3</sub> )	Ácido fosfórico (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
Ecuador	38	38	75
México	14	17	29
Costa Rica	28	18	14
Australia	37,5	37,5	78
Guatemala	14	17	29
Cuba	51	25	24
Mauricio	25	25	50
Brasil	37,5	37,5	78

Fuente: Abrantes, 1996; Barbosa et al., 2002; Carabaloso et al., 2015; Flores, 2021<sup>1</sup>; Heinz y Tew, 1987; Queme, 2021<sup>2</sup>;

### 3.8.8 Sexado

El sexado es la siguiente etapa en el proceso de hibridación luego de la presencia de la flor. La caña de azúcar es una planta hermafrodita, que en las flores se encuentran tanto los órganos machos (estambres con sus anteras), en cuanto a las hembras (ovario con el estilo y estigma) y su sexo se mide por la cantidad de polen fértil que liberan las anteras, donde se clasifican como machos a las variedades que presenten un 20% de polen fértil en adelante, y las hembras inferiores al 20% de polen fértil. Se debe tener en cuenta que el sexado puede variar cada año, por lo que es muy importante realizarlo en cada cruzamiento (Flores, 2001).

La técnica del sexado consiste en tomar cuatro segmentos medios de espiguillas que aún no hayan presentado la emergencia de las anteras. Se extraen al menos 8 anteras, a las que se les agrega una gota de lugol (solución de Yodo en Yoduro de Potasio) y se maceran hasta romper todas las anteras. Luego se le coloca un cubre objetos y se lleva al estereoscopio para hacer el conteo. El conteo se realiza tomando al azar diversos puntos (al menos 3), contando granos de polen teñidos (color azul-púrpura, viables) y polen hialino (no teñido, color amarillento, estériles). El porcentaje de viabilidad de polen se obtiene tomando el número total de granos de polen teñidos (viables) y se divide entre el número total de granos de polen (total de granos de polen teñidos más hialinos) multiplicado por 100 (Polo, 2005).

### 3.9 Establecimiento de los cruces

Para establecer un programa de mejoramiento genético es necesario contar con un banco de germoplasma que aporte materiales para realizar el proceso de hibridación. Es muy común el uso de pequeños bancos de progenitores, los cuales han sido seleccionados por genealogía (amplia

<sup>1</sup> CIDCA, México, Comunicación personal, 20 de abril de 2021

<sup>2</sup> CENGICAÑA, Guatemala, Comunicación personal, 21 de abril de 2021

base genética), variedades probadas con valor parental, clones experimentales avanzados, rendimientos agrícolas e industriales, resistencia a plagas y enfermedades (Bischoff y Gravois, 2004; Flores, 2001).

Un aspecto vital para que se pueda realizar el cruzamiento es la presencia de floración por parte de los materiales, por lo que, en condiciones desfavorables de floración natural, es necesario el uso de cámaras de floración, mediante el manejo del fotoperiodo. También algunos programas de mejoramiento de la caña de azúcar han adoptado temperaturas controladas como es el caso de Australia, Sudáfrica y los EE. UU para lograr la sincronización y poder realizar los cruzamientos deseables (Melloni, Melloni, Scarpari, García y Pinto, 2015). Otra forma de obtención de las flores es la búsqueda de condiciones naturales idóneas, donde factores como fotoperiodo, temperatura y altitud juegan un rol muy importante.

Para el montaje de los cruzamientos en caña de azúcar, se deben de escoger aquellas flores que estén iniciando la salida de la panícula del estuche, las cuales son cortadas desde la base del suelo y son transportados a la casa de cruzamientos, con el debido cuidado para evitar daños en el verolís. Según Abrantes (1996), indica que las flores femeninas deben cortarse de primero para permitir un mayor desarrollo de la flor, para luego colocarle la inflorescencia masculina cuando esta se encuentre próxima a abrir las anteras. Normalmente se sitúan tres panículas masculinas por cada panícula femenina, y se debe tener precaución de colocar la flor femenina en la parte inferior del bolso, ya que a medida que abre continúa creciendo y es necesario dejar buen espacio para que las panículas masculinas queden por encima de las femeninas. Los progenitores masculinos deben ser removidos en horas tempranas de la mañana para ayudar a diseminar el polen.

Con base en estudios de Abrantes (1996) y Flores (2001), el periodo de receptividad de los progenitores femeninos fluctúa alrededor de 10-15 días, y además la panícula femenina debe permanecer por un periodo de 15-20 días sin situarle progenitor masculino, esperando que la polinización se haya presentado y las semillas tengan la posibilidad de que maduren.

### **3.9.1 Tipos de cruzamientos**

Los cruzamientos consisten en el apareamiento entre progenitores previamente seleccionados según las características que se desea mejorar, que sincronicen su floración para disponer de panículas femeninas y masculinas para que se produzca la fecundación (Pérez et al., 1997).

### **3.9.2 Cruzas simples o biparentales**

Los cruces biparentales se definen como el cruce de dos clones parentales conocidos y son probablemente los más utilizados por los fitomejoradores de la caña de azúcar. Este consiste en aislar a los padres en recintos a prueba de polen utilizando linternas a base de tela, vidrio y plástico. En este cruce se conocen la madre y el padre y se pueden combinar las diferentes técnicas de cruzamientos (Castro, 1996; Heinz y Tew, 1987).

### **3.9.3 Cruzas múltiples o policruces**

El primer policruce se instaló en Hawái entre los meses de noviembre y diciembre de 1934, con el objeto de evaluar el comportamiento reproductivo de un gran número de materiales a un bajo costo. Dado que en general es imposible hacer todas las posibles combinaciones entre varios clones, se propuso el policruce para proporcionar una amplia gama de combinaciones (Heinz y Tew, 1987). El policruce consiste en cruzar un grupo de progenitores femeninos con otro grupo de progenitores masculinos simultáneamente, donde se conoce la madre y a los posibles padres (Castro, 1996).

### **3.9.4 Autopolinización**

La autofecundación como técnica de mejoramiento en caña de azúcar ha sido muy utilizada, siendo Stevenson (1965) en Barbados el mayor defensor de la misma. Su principal argumento a favor fue que sirvió como una herramienta eficaz para exponer y eliminar alelos nocivos en clones de mejoramiento comercial, asegurando así una alta proporción de excelente progenie después de la hibridación de clones endogámicos (Heinz y Tew, 1987). La autopolinización si bien ha mostrado en alguna medida la segregación de progenies, no existe mayor recombinación genética y se tiende a la producción de variedades homocigotas, con poca heterogeneidad y vigor (Castillo y Silva, 2004).

La autopolinización en caña de azúcar se realiza protegiendo la panoja con una capucha o linterna para evitar la polinización cruzada accidental. Este tipo de cruce da lugar a la aparición del fenómeno conocido como consanguinidad, con aumento en el número de loci homocigóticos (Diniz, 2016).

### **3.9.5 Polinización libre**

En este tipo de cruzamiento, las semillas se cosechan directamente de las panículas en el campo, por lo tanto, entre todos los métodos es el más económico. Sin embargo, tanto por la posibilidad de autofecundación como por las dificultades para controlar los cruces no es un proceso habitualmente utilizado (Diniz, 2016).

El programa de mejoramiento en RIDESA Brasil realiza aproximadamente 5000 cruces anualmente, principalmente en la estación de floración y cruce de Serra do Ouro donde realizan un 45% de cruces múltiples, un 31% de cruces biparentales, un 14% de poli cruces específicos (14%), polinización libre un (9%) y autopolinización (1%) (Cursi et al., 2022).

### **3.9.6 Cosecha, secado y conservación de la semilla sexual (Fuzz)**

La cosecha de la panícula de verolís se realiza al observarse el amarillento del güin y secado de la hoja bandera, por lo que recomiendan estar observando diariamente los cruzamientos, ya que en algunos casos las variedades suelen dejar caer las semillas y como consecuencia se pierde el producto del cruce, en estos casos debe proveerse de un bolso de tela a las inflorescencias para

evitar la pérdida de la semilla. Normalmente la cosecha se realiza entre los 30 y 40 días después de montado el cruce situando la panícula en un bolso de lienzo, papel u otro material similar, donde recomiendan realizar la cosecha durante las primeras horas de la mañana para que la panícula comience el secado durante el resto del día (Abrantes, 1996; Castro, 1996).

El secado de las semillas se realiza colocando el bolso con la semilla de verolís en un lugar fresco y que no reciban los rayos directos del sol, y el proceso puede variar entre 3 y 5 días, donde en algunos casos se recomienda el uso de equipos para un secado más adecuado. Posteriormente las panículas son despalladas, lo cual consiste en separar las pequeñas espiguillas o flores de sus raquis y del güin central (Abrantes, 1996).

La conservación de la semilla se realiza por medio de refrigeración, donde se buscan temperaturas que oscilen entre los 0 – 2 °C. La semilla se debe guardar en un recipiente metálico o en una bolsa de polietileno cerrada herméticamente, en el interior del frasco debe colocarse una pequeña bolsa de cloruro de calcio anhidro para que absorba la humedad presente (Abrantes, 1996).

### **3.10 Variedades de caña de azúcar**

#### **3.10.1 LAICA 08-390**

Progenitores: B 76-259 \* Mex 79-431

Esta variedad es origen nacional, la cual fue obtenida mediante el proceso de hibridación realizado en nuestro país por parte del programa de variedades de LAICA-DIECA. Este material se encuentra en crecimiento en la región norte, ya que a partir del año 2019 se liberó para su siembra comercial, aumentando su dispersión en la región por sus buenas características. (Durán et al., 2018 agosto). Para el año 2019 contaba con 101,27 Ha siendo esto un 1,23% de la región norte, además se encuentra como material en crecimiento en la región de Guanacaste, específicamente en los terrenos del ingenio CATSA (Chaves et al., 2020).

Esta variedad se caracteriza por ser de crecimiento erecto, tallos de grosor de medio a gruesos, despaje de regular a malo, con una cantidad muy buena de tallos por metro lineal y con una baja incidencia de floración en la zona norte. En el tema industrial posee un contenido de fibra medio y muy buenos rendimientos industriales (Kg azúcar/t), si se le cosecha en el momento adecuado. Posee una maduración de intermedia a tardía, aunque sus rendimientos en el primer tercio podrían calificarse como aceptables (Chaves y Barquero, 2020).

#### **3.10.2 LAICA 01-604**

Progenitores: Q 96 x SP 70-1143

Esta variedad es de origen nacional, obtenida mediante los cruzamientos realizados en el país por parte del programa de variedades, la cual ha tenido una buena aceptación en la zona norte y ha

permite mantenerse como una opción viable de cultivo. Actualmente ocupa un 5,63% de la región siendo el cuarto material más sembrado según el censo cañero de 2019 (Chaves et al., 2020).

La variedad se caracteriza por tener tallos de color morado intenso, delgados, buena cantidad de tallos por metro lineal, además de presentar una excelente concentración de azúcar. Se adapta bien a la cosecha mecanizada y también semi-mecanizada. La variedad presenta un regular rebrote de cepa en los ciclos de soca. La maduración es de forma temprana, la cual se cosecha a inicios de zafra, siendo el material calificado para iniciar las zafras. Tiene un contenido medio-alto de fibra (14,29%) y una floración de un 20% siendo esta de baja a media (Chaves y Barquero, 2020).

### **3.10.3 RB 86-7515**

Progenitores: RB 72-454 \* Poli cruce

Esta variedad fue seleccionada en el estado de Minas Gerais por medio de RIDESA en Brasil, la cual es una de las variedades más cultivadas en este país por su buen comportamiento en suelos de baja fertilidad, arenosos y secos. En Costa Rica se siembra de forma comercial en la región Valle Central y Guanacaste donde ocupa un 68,89 y 5,03 % respectivamente según el censo cañero de 2019, siendo la variedad de mayor importancia en la zona del Valle Central (Chaves et al., 2020).

La variedad se caracteriza por su rápido crecimiento, de tallos de color rojo intenso, de muy buen grosor, de porte erecto y buen despaje. Tiene una alta productividad de caña por hectárea, siendo catalogada de madurez tardía, y su principal limitante es la floración, ya que se han encontrado cañales con floración superior al 50% y con un alto contenido de corcho. Es un material con gran tolerancia a suelos secos y de baja fertilidad, por lo que se ha convertido en una excelente alternativa para aquellos productores que posean esas condiciones, siendo esta la mayor condición del valle central. Un punto muy importante de esta variedad, es su tolerancia al virus del mosaico (SCMV), siendo este un problema muy importante en esa región de nuestro país (Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), 2012).

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Ubicación del ensayo

El estudio se realizó en la estación experimental DIECA perteneciente a la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), ubicada en Santa Gertrudis Sur, Grecia Costa Rica, en la casa de cruzamientos genéticos. La estación está localizada a 1.005 m.s.n.m., 10°05' 18" latitud norte y 84°17' 09" longitud oeste.

### 4.2 Condiciones meteorológicas

La precipitación que se registró durante el año 2020 en la estación experimental DIECA fue de 3.353,7 mm, con lluvias importantes en 10 de los 12 meses del año y siendo el mes de setiembre el más lluvioso con 672,3 mm y febrero-marzo como los meses que no presentaron ninguna precipitación. Además, la temperatura media fue de 21,6 °C presentando 10,5°C de temperatura mínima en el mes de febrero y de 32,4 °C como temperatura máxima en el mes de agosto (E. Chavarría, comunicación personal, 13 de abril de 2021).

### 4.3 Material vegetal

Para realizar los cruzamientos se emplearon las variedades comerciales LAICA 08-390 y LAICA 01-604 las cuales se utilizaron como madres, las mismas fueron recolectadas en plantaciones comerciales de la región norte específicamente en las localidades de Los Chiles y San Carlos. Como progenitor masculino se utilizó la variedad comercial RB 86-7515, y se recolectó en el Valle Central específicamente en el Ingenio El Porvenir en Grecia. Estas variedades comerciales presentan buenas características agroindustriales y todas son de interés para generar nuevos híbridos.

### 4.4 Soluciones nutritivas

Se utilizaron tres soluciones nutritivas durante la etapa de hibridación, las cuales son manejadas en distintos centros de investigación alrededor del mundo (Abrantes, 1996; Carballoso et al, 2015; C. Flores, comunicación personal, 20 de abril de 2021; E. Silva, comunicación personal, 13 de abril de 2021; J. Queme, comunicación personal, 21 de abril de 2021). Las mismas se encuentran descritas en la tabla 4, en partes por millón.

**Tabla 4.** Soluciones nutritivas (ppm) evaluadas en el proceso de hibridación de la caña de azúcar en la estación experimental DIECA-LAICA.

Solución utilizada	Solución nutritiva (ppm)		
	Ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Ácido nítrico (HNO <sub>3</sub> )	Ácido fosfórico (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
Ecuador – Australia	38	38	75
México -Guatemala	14	17	29
Costa Rica	28	18	14

## **4.5 Establecimiento y manejo del ensayo**

### **4.5.1 Selección de inflorescencias**

Las flores de estas variedades de caña de azúcar fueron seleccionadas en el campo cuando las inflorescencias recién comenzaban a salir, las mismas fueron cortadas en la parte basal del tallo, y llevadas a la casa de cruzamientos en la estación experimental DIECA.

Las flores de todas las variedades se obtuvieron a inicios de semana para poder realizar el sexado y establecer el cruce a más tardar a finales de la misma semana. Para el establecimiento del cruzamiento se siguió la metodología descrita por Durán et al., (2018 agosto), para ello las inflorescencias se ubicaron en la casa de cruzamientos, colocandose en las soluciones nutritivas de acuerdo a los tratamientos definidos.

### **4.5.2 Sexado**

Este consistió en tomar un segmento de la espiguilla en la zona media de la inflorescencia, luego, se extraen ocho anteras las cuales son colocadas en un portaobjetos. A las anteras extraídas se les agrega una gota de lugol (solución de Yodo en Yoduro de Potasio) y se maceraron hasta romper todas las anteras y luego se les colocó un portaobjetos con un cubreobjetos y se llevaron al estereoscopio para hacer el conteo. El conteo se realizó tomando tres puntos homogéneos de la muestra, donde se contó la cantidad de los granos de polen teñidos (color azul-púrpura, viables) y polen hialino (no teñido, color amarillento, estériles), para estimar el porcentaje de viabilidad de polen fértil (Polo, 2005).

Para conocer el porcentaje de polen fértil, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de fertilidad} = \frac{\text{Total de granos de polen fértil}}{\text{Conteo total de granos de polen}} \times 100$$

Con el sexado realizado se clasifico los materiales en machos y hembras de la siguiente manera:

Variedades con un rango menor al 20% de polen fértil = Hembra

Variedades con un rango mayor al 20% de polen fértil = Macho

### **4.5.3 Montaje del ensayo**

El ensayo se realizó utilizando una capucha o linternilla de tela, la cual tenía un tamaño de 1,30 m de largo por 60 cm de ancho, que no permite la polinización cruzada por parte del viento o insectos. Además, los tallos se colocaron en un galón abierto donde se les agregó la solución nutritiva según corresponda para cada tratamiento. Esta metodología es la utilizada rutinariamente en los procesos de hibridación de LAICA (Durán et al., 2018).

Teniendo claramente el sexado, se dispone a la realización del cruzamiento, el cual consistió en realizarle un acodo aéreo o margullo a las hembras. Este acodo aéreo consiste en colocar en la parte media del tallo, una bolsa de polietileno con un sustrato a base de suelo, arena y abono orgánico en una proporción 2:1:1, con el fin que la caña genere un grupo de raíces fibrosas y este medio le brinde una buena parte de nutrientes durante el proceso de hibridación, al cual se le agregó agua una vez por semana para que mantenga una buena humedad.

Para lograr una mejor polinización, se colocaron las hembras más bajo que los machos dentro de la capucha, y se verificó que los tallos quedaran dentro del galón con solución nutritiva. En cada capucha se colocaron dos inflorescencias femeninas y tres masculinas para favorecer la polinización. Para todas las soluciones y los cruces se utilizaron un total de 18 capuchas.

#### **4.5.4 Mantenimiento del cruce**

Para brindarle un correcto mantenimiento a las soluciones nutritivas, se completaron los galones con solución nutritiva los días lunes, miércoles y viernes con el objetivo de mantener una adecuada concentración de ácidos en la solución. Los lunes y jueves se agregó agua al acodo para mantener humedad, y se revisó la posición de las flores para verificar que se encuentren cercanas entre ellas. A los 18 días de haberse realizado el cruce se eliminaron los machos, quedando únicamente las inflorescencias femeninas, las cuales se mantuvieron dentro de la capucha hasta su cosecha.

#### **4.5.5 Cosecha, secado, conservación de la semilla botánica y prueba de germinación**

La cosecha de la semilla se realizó cuando en la panícula de verolís comenzó a observarse un color amarillento y la hoja bandera seca, se cosecharon las inflorescencias, se les quito parte del raquis y fueron guardadas en una bolsa de papel para posteriormente ser secadas.

El secado consistió en dejar por un lapso de una semana las inflorescencias (raquis y semilla) hasta que presenten una disminución de humedad. Transcurrido la semana, se limpió la semilla a mano eliminando el raquis y eje central de la flor, se guardaron en bolsas de polietileno con cierre hermético en la refrigeradora a una temperatura de 0 – 2 °C y así garantizar su conservación. Antes de guardar la semilla se sacó un gramo por repetición para realizar la prueba de germinación.

La prueba de germinación se realizó sembrando un gramo de semilla por repetición la cual se efectuó bajo condiciones de invernadero y donde se utilizaron bandejas plásticas de 80 x 30 cm, mismas a las que se les coloco peat moss o turba desinfectada por solarización por una semana. Se colocó un gramo por unidad experimental por bandeja, para obtener la germinación de plántulas por gramo. Estas fueron regadas hasta alcanzar un contenido de humedad próximo a capacidad de campo y después se colocó un plástico transparente para que alcance altas temperaturas (35-37 °C) y una buena humedad (60%) por una semana, para luego quitar el plástico y continuar regando a capacidad de campo.

#### 4.6 Tratamientos a evaluar

Se establecieron 6 tratamientos donde se evaluarán 3 soluciones nutritivas y dos cruzamientos biparentales, los cuales se detallan a continuación. Tabla 5.

**Tabla 5.** Tratamientos evaluados en el proceso de hibridación de la caña de azúcar en la estación experimental DIECA-LAICA.

<b>Tratamiento</b>	<b>Solución nutritiva</b>	<b>Cruzamientos</b>
T1	Ecuador – Australia	LAICA 01-604 * RB 86-7515
T2	México -Guatemala	LAICA 01-604 * RB 86-7515
T3	Costa Rica	LAICA 01-604 * RB 86-7515
T4	Ecuador – Australia	LAICA 08-390 * RB 86-7515
T5	México -Guatemala	LAICA 08-390 * RB 86-7515
T6	Costa Rica	LAICA 08-390 * RB 86-7515

Fuente: Elaboración propia

#### 4.7 Variables a evaluar

##### 4.7.1 Días a cosecha de semilla

Esta variable contabilizó la cantidad total de días desde el inicio del cruzamiento hasta su finalización, la cual se realizó cuando el progenitor femenino presentó un amarillamiento en el cogollo, y comenzó a soltar la pelusa.

##### 4.7.2 Peso seco de la semilla botánica

El peso seco se obtuvo utilizando una balanza marca OPTIKA modelo I3102 y se realizó cuando las semillas se encontraban secas y libre de impurezas.

##### 4.7.3 Plántulas producidas

Para conocer la cantidad de plántulas, se realizó la siembra de un gramo de semilla por repetición la cual se efectuó bajo condiciones de invernadero donde se utilizaron bandejas plásticas de 80 x 30 cm, las cuales tenían peat moss o turba desinfectada por solarización por una semana. Estas fueron regadas hasta alcanzar capacidad de campo y después se les colocó un plástico transparente para que alcance altas temperaturas (35-37 °C) y una buena humedad (60%) por una semana, para luego quitar el plástico y continuar regando a capacidad de campo. El conteo final de plántulas producidas se realizó a los 15 días después de la siembra (DDS).

#### 4.8 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tres soluciones nutritivas con dos cruces, donde la unidad experimental fueron dos panículas femeninas y tres panículas masculinas con tres repeticiones por cruzamientos y por solución.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ij} \begin{cases} i = 1,2,3, a \\ j = 1,2, b \end{cases}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta observada o medida en la ij-ésima unidad experimental

$\mu$  = Media general

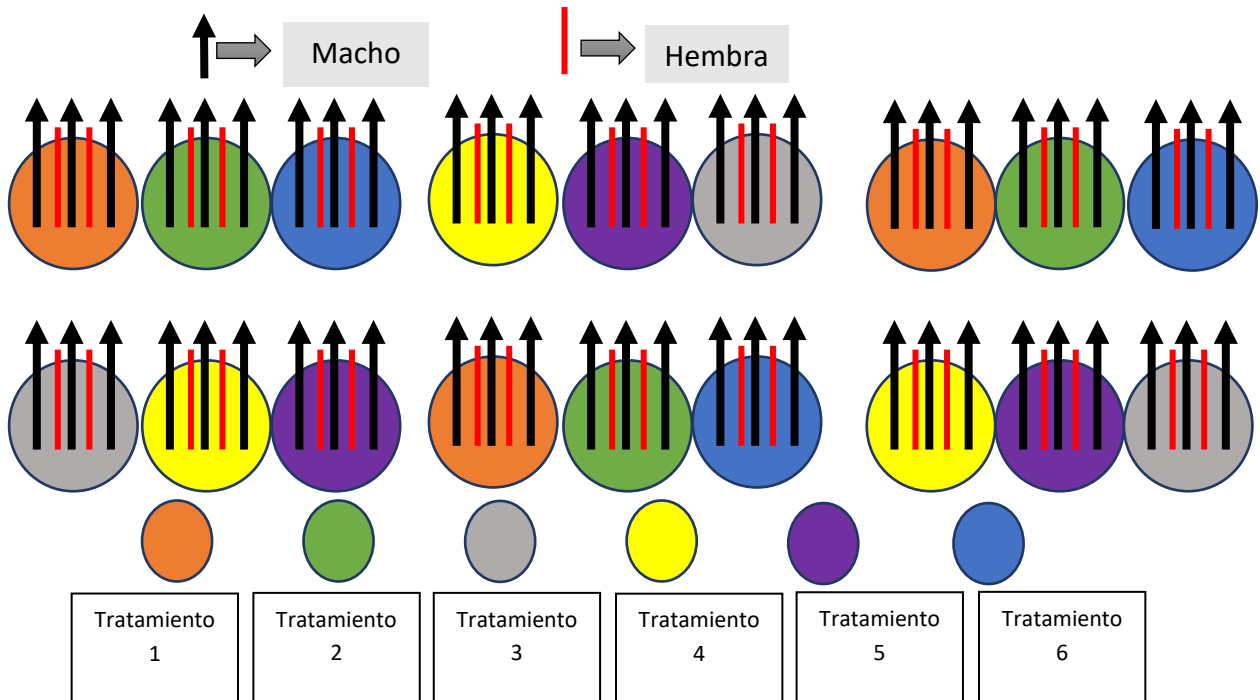
$\alpha_i$  = Efecto del i-ésimo nivel del factor "A"

$\beta_j$  = Efecto del j-ésimo nivel del factor "B"

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel del factor "A" y el j-ésimo nivel del factor "B"

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

A continuación, se detallan los tratamientos según el diseño experimental y su ubicación en la casa de cruzamiento en la estación experimental DIECA. Figura 1.



**Figura 1.** Diagrama con el detalle de los tratamientos, según el diseño experimental utilizado y su ubicación de las unidades experimentales (capuchas) durante el periodo del ensayo, en la estación experimental DIECA.

Fuente: Elaboración propia

#### **4.9 Análisis de resultados**

Para evaluar el efecto de las soluciones nutritivas y los cruces sobre la producción de semilla botánica de caña de azúcar en las variables días a cosecha, peso seco de la semilla botánica (fuzz) y producción de plántulas; se realizó un análisis de varianza por medio del programa INFOSTAT, para un diseño factorial de 3x2 y en la comparación de tratamientos se utilizó un alfa de 0,05%, mediante la prueba de DGC.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 Verificación de resultados de normalidad y residuos

Los resultados obtenidos en la evaluación de soluciones nutritivas y cruces durante la etapa de hibridación de la caña de azúcar (*Saccharum spp*) en Costa Rica, en las variables días a cosecha, peso seco de la semilla y producción de plántulas, según el supuesto de normalidad (Anexo 1, derecha), indican que la distribución de los datos se encuentra muy cercanos a la línea recta significando que son normales (Amat, 2022).

Los valores por encima de la línea recta en la esquina superior derecha son residuales con valores positivos mayores al esperado; mientras que la serie de valores por encima de la recta de la esquina inferior izquierda, son residuales con valores negativos menores que el esperado (Sánchez, 2019).

Con respecto al gráfico de los residuos (Anexo 1, izquierda) en las variables días a cosecha, peso seco de la semilla y plántulas producidas, se observa una varianza de residuos constante, mostrando que los residuos se distribuyen al azar alrededor del valor cero lo que indica el cumplimiento del supuesto del análisis de varianza (Sánchez, 2019).

#### 5.1.1 Sexado de las variedades

Las variedades utilizadas en esta investigación se les realizó el sexado o viabilidad del polen presente antes del establecimiento del cruzamiento, y se obtuvo que LAICA 01-604 no presento polen fértil teniendo en el promedio de tres conteos 44 gránulos de polen infértil. En el caso de LAICA 08-390, igual mente no presento polen fértil, teniendo en promedio 24,6 gránulos de polen infértil. Ambas variedades de LAICA se comportan como excelentes materiales para ser utilizadas como hembras o receptoras de polen (Diniz et al., 2018). Tabla 6.

La variedad RB 86-7515 presento polen fértil con un promedio 34,98% teniendo buenas características para ser utilizadas como progenitor masculino o donador de polen en la evaluación de soluciones nutritivas (Polo, 2005). Tabla 6.

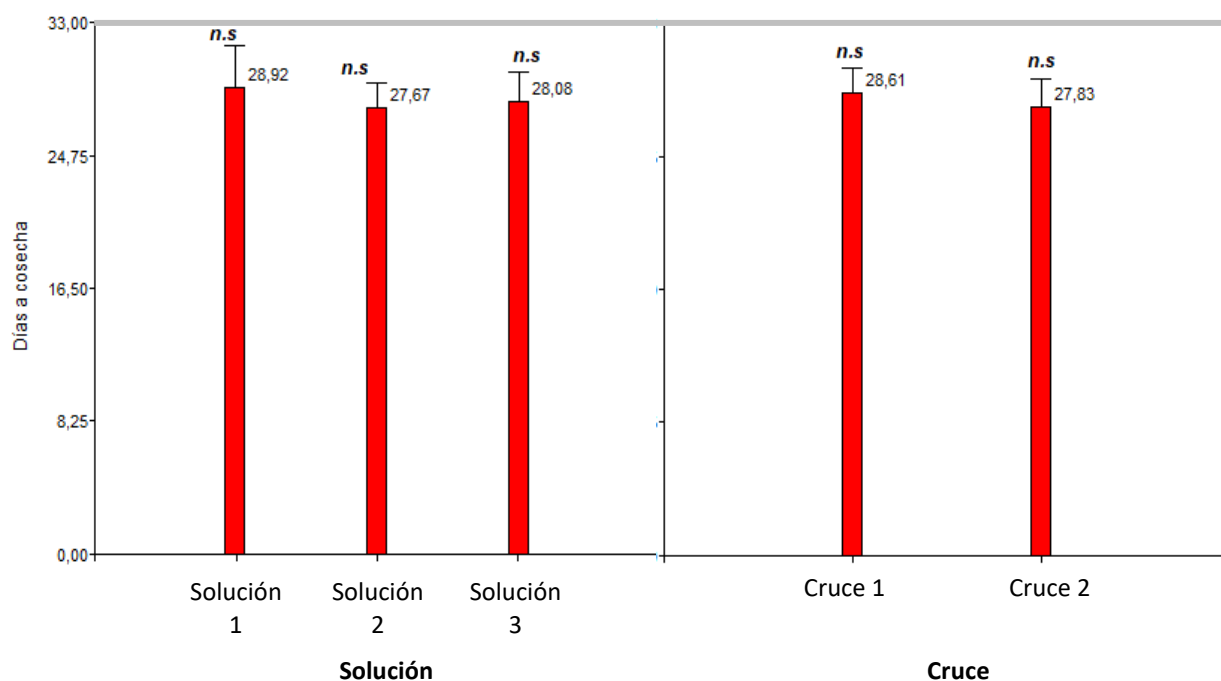
**Tabla 6.** Promedios de gránulos de polen en el sexado de tres variedades de caña de azúcar utilizadas en la prueba de soluciones nutritivas en la etapa de hibridación.

Variedad	Polen Fértil	Polen Infértil	Total de polen	% de fertilidad
RB 86-7515	65	128,3	193,3	35,0
LAICA 01-604	0	44	44	0,00
LAICA 08-390	0	24,67	24,67	0,00

### 5.1.2 Días a cosecha de semilla

En esta variable en la interacción cruce-solución no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,1989$ ), por lo que se procede al análisis de los factores independientes (anexo 2). En lo que respecta a los días a cosecha en el efecto solución no se encontraron diferencias estadísticas ( $p < 0,9063$ ) entre las soluciones, ya que se obtuvieron valores medios de 28,92; 28,8 y 27,67 (Figura 2).

De igual forma en el efecto cruce, no se lograron encontrar diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,7447$ ) obteniendo valores medios de 28,61 y 27,83 según el cruce 1 y 2 respectivamente. Datos similares a los encontrados en esta investigación son reportados por la base de datos histórica del programa de variedades LAICA-DIECA, donde en las últimas 6 campañas de hibridación obtuvieron en promedio una cosecha de las inflorescencias femeninas de 29,23 días, siendo la temporada 21-22 el único que superó los 30 días (Anexo 5).



**Figura 2.** Resultados obtenidos en la variable días a cosecha en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar

La cosecha de las inflorescencias se recomiendan hacerla a los 25-30 días según CENGICAÑA, (2012) de Guatemala, en la India (Sugarcane Breeding Institute (ICAR), 2022) y en Cuba normalmente la cosecha se realiza entre los 30 y 40 días después de montado el cruce (Abrantes, 1996; Castro, 1996), en Brasil se estima como promedio 30 días la cosecha de las inflorescencias femeninas (Morais et al., 2015) lo que indica que la cosecha en este investigación se mantuvo dentro del rangos reportados a nivel mundial.

La temporada de floración natural de la caña de azúcar en Costa Rica se encuentra muy bien marcada entre el final de octubre y diciembre (Carvajal et al., 2019). Esto provoca que la etapa de

hibridación o cruzamientos se deban realizar entre los meses de noviembre a diciembre y acelerar el paso para aprovechar todas las inflorescencias posibles al máximo. Esta investigación se realizó en el mes de diciembre encontrándose al final de la época de floración donde la presencia de flores ya era limitada, lo cual pudo afectar los resultados obtenidos.

Un efecto muy importante en la variable días a cosecha es valorar los factores costos y espacio, principalmente en la casa de cruzamientos que es algo limitado, por ende, en este estudio se logró obtener un promedio de periodo de cosecha a los 28,22 días siendo un beneficio para el programa de variedades en el área de hibridación donde tienen mayor espacio para continuar con nuevos cruces, además de ahorrar en el gasto de insumos como solución nutritiva y agua de lluvia que para esta época ya es muy limitada.

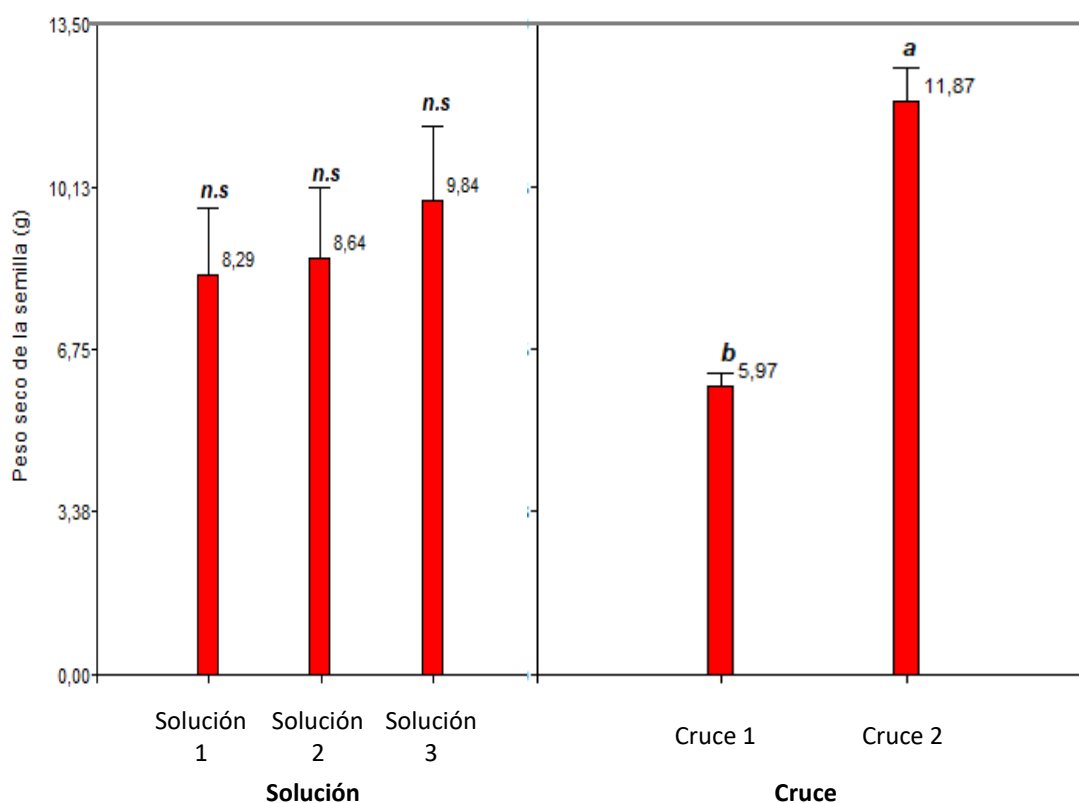
## **5.2 Peso Seco de la semilla botánica**

Cuando se analizó el efecto de la solución nutritiva/cruce tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,8278$ ) por lo que se procede al análisis de los factores independientes (anexo 3).

Cuando se analizó el peso seco de la semilla botánica se encontraron diferencias estadísticas significativas en el efecto cruce ( $p < 0,0001$ ), pero no se encontraron diferencias estadísticas cuando se analizó la solución nutritiva ( $p < 0,2804$ ) según la prueba DGC (anexo 3).

A pesar de estos resultados es importante acotar que la solución nutritiva 3 produjo 1,55 g más que la solución 1 y 1,2 g más que la solución 2, esta diferencia en peso podría ser significativa cuando esta práctica se realice en forma masiva o se establezca en un programa de hibridación, ya que se esperaría un mayor número plántulas.

Si observamos la figura 3, el cruce 2 produjo 5,9 g más de peso seco de semilla con respecto al cruce 1, esta diferencia nos indica que el cruce 2 podría ser una candidata para ser utilizada en un programa de hibridación.



**Figura 3.** Resultados obtenidos en la variable peso seco de la semilla en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar

Según información histórica del programa de variedades LAICA-DIECA se han reportado a través de seis campañas de hibridación un promedio de 13,79 gramos de semilla en peso seco (Anexo 6), en cambio en esta investigación se encontró una cantidad inferior siendo de 8,92 gramos en promedio (Figura 3). Estos resultados obtenidos por DIECA-LAICA se podrían deber al uso de una mayor cantidad de variedades, donde se indica que para la campaña 21-22 utilizaron 47 materiales como progenitores femeninos distintos llegando a alcanzar 15,26 gramos de peso seco de semilla sexual de caña de azúcar (Anexo 6), donde se pueden encontrar variedades con una mayor producción de semilla en peso seco con pelusa.

En una prueba de soluciones nutritivas agregando elementos benéficos como aluminio (Al), lantano (La), Yodo (I), Silicio (Si) y Titanio (Ti) en la panícula masculina de la variedad CP 80-1743 con la solución nutritiva México o tratamiento 2 obtuvieron un peso seco en la semilla de 10,02 g (Sentíes-Herrera et al., 2016). Si comparamos los resultados de la solución nutritiva de México en esta investigación fue 8,64 g en promedio de los dos cruzamientos siendo este resultado muy inferior al obtenido en el testigo por Sentíes-Herrera et al. (2016), lo que indica que el efecto variedad es el que mayor incide en el proceso de hibridación.

En un estudio para verificar la producción y rendimiento de semilla sexual de caña de azúcar en la variedad RB 92-579 como receptor (hembra) y donante (macho) de polen en un cruce

biparental con otras seis variedades utilizando la solución nutritiva Australia o tratamiento 1 obtuvieron 3,64 g por cruce en promedio cuando la variedad se utilizó como hembra y en cambio cuando se utilizó como macho obtuvieron 7,10 g. de peso seco de la semilla (Diniz et al., 2018). Estos resultados son muy inferiores al obtenido en este ensayo, y se puede deber a que en Brasil realizaron una limpieza de la pelusa de la inflorescencia dejando únicamente la semilla pura. En esta investigación la semilla se le dejó la pelusa ya que es la forma en que se trabaja regularmente por parte del programa de variedades.

En Brasil identificaron que la variedad RB 92-579 se comporta de forma más adecuada como macho, indicando que es un buen progenitor en los programas de hibridación, y que el efecto de los materiales en su sexado como hembra y macho influye mucho en el resultado final (Diniz et al., 2018). En esta investigación se demostró que la variedad LAICA 01-604 presentó buenos resultados en las variables peso seco de la semilla y germinación mostrándose como un material apto para cruzamientos.

Un aspecto muy importante en la hibridación es el peso seco, que, aunque no existe una correlación directa entre el peso seco en gramos con la producción de plántulas producidas; se puede definir como un dato adecuado al efectuar un cruce de 10 gramos como mínimo, esto con el fin de lograr una adecuada producción de plántulas que puedan ser evaluadas en campo. En esta investigación el cruce 2, obtuvo la suficiente semilla (11,87 g) y el cruce 1 quedó con una baja producción de semilla con solo 5,97 g por cruce en promedio.

Un efecto importante en el resultado del peso seco de la semilla corresponde al tamaño de las inflorescencias femeninas, ya que la variedad LAICA 01-604 tiene un desarrollo muy inferior a la variedad LAICA 08-390, lo que incidió directamente en los resultados. Esto nos indica que el resultado obtenido con el cruce 1, puede estar presentándose afectado por el tamaño de la inflorescencia femenina de la variedad LAICA 01-604.

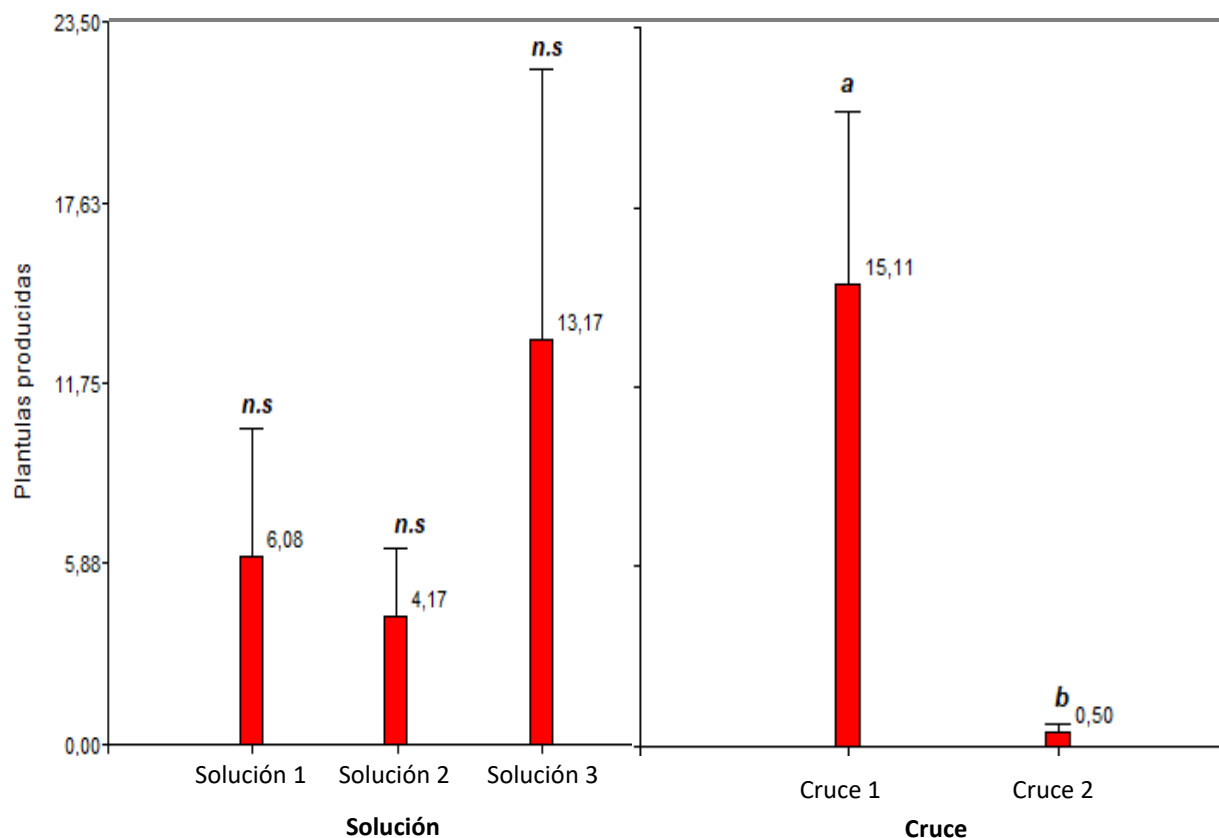
### **5.3 Plántulas producidas**

En la variable plántulas producidas en la interacción cruce-solución no se encontraron diferencias significativas con un valor de  $p < 0,3804$  por lo que se procede al análisis de los factores independientes (anexo 4).

Para la variable plántulas producidas u obtenidas cuando se analizó la solución nutritiva ( $p < 0,3495$ ) no se encontraron diferencias significativas  $p < 0,005$  según DGC (Anexo 4), obteniendo resultados de 6,08, 4,17 y 13,17 según la figura 4 respectivamente.

Con respecto a la variable plántulas producidas por cruzamiento se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,0187$ ) según DGC  $> 0,05$  (Anexo 4); el cruce 1 produjo 14,61 plantas más por gramo de semilla sembrada que la cruce 2 (Figura 4).

Sin embargo, para esta variable se logra observar que la solución 3 presentó la mayor cantidad de plántulas con 13,17; seguida de la solución 1 con 6,08 plántulas y la solución 2 con 4,17 plántulas. Estos resultados indican que, la solución de Costa Rica supero por mucho a las otras soluciones utilizadas en el estudio ya que se obtuvo 46,16 y 31,66% más de plántulas que la solución Australia y Guatemala respectivamente tomando como 100% a la solución de Costa Rica.



**Figura 4.** Resultados obtenidos en la variable plántulas producidas por gramo en la prueba de soluciones nutritivas y cruzamientos genéticos en la etapa de hibridación en caña de azúcar.

En una prueba de soluciones nutritivas realizada en Cuba, valoraron tres soluciones distintas (Cuba, Australia y Mauricio) y obtuvieron una producción de 19 plántulas por gramo en promedio utilizando 5 cruces distintos, donde la mejor solución fue la de Australia con 29 plántulas en promedio por cruce (Carballoso et al., 2015). En el caso de la presente investigación se logró una producción promedio de 7,81 plántulas por gramo, siendo la solución utilizada en Costa Rica la de mejor producción con 13,17 plántulas por gramo, lo que indica resultados muy inferiores a los obtenidos por los investigadores cubanos. Algo que pudo haber afectado estos resultados tan inferiores a los reportados por Cuba y Brasil (Carballoso et al., 2015; Diniz et al., 2018) podría radicar en la baja cantidad de polen disponible en las variedades utilizadas como hembras, ya que los materiales utilizados presentaron polen totalmente infértil, siendo catalogados como excelentes progenitores femeninos, pero el polen presente en las variedades LAICA 01-064 y LAICA 08-390 fue de 44 y 24,67 gránulos respectivamente cada una, teniendo poco polen disponible para que se

diera la fecundación por parte del progenitor masculino. Este sería un aspecto muy importante para validar en otros estudios, ya que se no se cuenta con la información para brindar una recomendación de polen necesario en las inflorescencias femeninas para ser utilizadas en los programas de hibridación en caña de azúcar.

Un trabajo muy interesante realizado en Brasil utilizó a la variedad RB 92-579 como receptor (hembra) y donante (macho) de polen en un cruce biparental con otras seis variedades donde obtuvieron 5,2 plántulas por gramo en promedio por cruce cuando la variedad RB 92-579 se utilizó como hembra y en cambio cuando se utilizó como macho logro 17,2 plántulas por gramo (Diniz et al., 2018). Este estudio aclara que los materiales utilizados en los programas de hibridación logran aportar en los cruzamientos mejores resultados cuando se utilizan en su máximo potencial siendo en este caso colocarlos como macho o hembra, donde el sexado es un factor de gran relevancia, pero se debe tener claro en cual posición (donador – receptor) han obtenido mejores resultados.

En este estudio, la variedad utilizada como hembra en el cruce 1 (LAICA 01-604) demostró tener el mayor potencial como progenitor femenino en la etapa de hibridación, en cambio LAICA 08-390 (cruce 2), produjo una cantidad mínima de plántulas teniéndola como un material de baja calidad para la etapa de hibridación, debiéndose valorar su efecto cuando se coloque en cruzamientos, pero como material donador de polen. En el caso de la RB 86-7515 ha demostrado en la experiencia de los Fito mejoradores excelentes resultados como donadora de polen, por ende, en los resultados obtenidos en el estudio se debe revalorar más variedades en la posición de receptor de polen.

En el programa de variedades de caña de azúcar en Costa Rica, a través de seis etapas de hibridación en la estación experimental DIECA, se logra apreciar que la producción de plántulas por gramo ronda las 78,86, siendo el año 2021 el que menor cantidad produjo, encontrándose a la mitad del promedio de seis etapas de hibridación, aunque estos resultados mostrados se refiere a cruces con germinación comprobada de forma anticipada (Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), 2022). En el estudio realizado se observa que la producción del cruce 1 (LAICA 01-604 \* RB 86-7515) logro una cantidad muy inferior en comparación con el promedio de los últimos seis etapas de hibridación, mostrándose como un cruce que logra producir plántulas, pero en una baja cantidad.

#### **5.4 Efecto de las soluciones nutritivas**

Analizando los resultados obtenidos en este estudio la solución utilizada en Costa Rica (solución 3) fue la de mejores resultados obtenidos en la variable peso seco de la semilla y producción de plántulas por gramo, siendo estas variables la de mayor peso para cualquier sistema de hibridación.

La solución de Costa Rica está compuesta principalmente por ácido sulfúrico (28 ppm) en una proporción de casi dos veces a los ácidos nítrico (18 ppm) y fosfórico (14 ppm), siendo esto muy diferente a las soluciones utilizadas en Ecuador-Australia y la solución México-Guatemala que se encuentran con una cantidad mayor de ácido fosfórico en sus respectivas soluciones.

La solución de Costa Rica duplica la cantidad de ácido sulfúrico en comparación con los otros ácidos, y como indica Quintanilla (2012), el uso de valores altos de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) pueden tener efectos tóxicos para las plantas pues tiene poca movilidad y se puede acumular en determinadas partes y provocar quemaduras en los tejidos, aunque en este estudio esta solución nutritiva logro los mejores resultados en las variables peso seco de la semilla y producción de plántulas; solo que hay que tener cuidado con el ácido sulfúrico porque en la India la solución hawaiana se volvió toxica y este ácido pudo haber incidido en el resultado (Heinz y Tew, 1987).

Quintanilla (2012), indica que bajos valores de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) en la solución pudieran provocar déficit del elemento en la planta, interrumpiendo el crecimiento y alargando el periodo de maduración, afectando la floración y fructificación, así como la formación de semilla; siendo este el punto vital en el uso adecuado de las soluciones en el proceso de hibridación, aunque en esta investigación la solución que menor cantidad de ácido fosfórico contenía fue la solución nutritiva de Costa Rica y fue la que mejores resultados presentaron obteniendo la mayor cantidad de semilla seca y plántulas producidas por gramo.

### **5.5 Efectos de los cruzamientos**

En la prueba de soluciones nutritivas se utilizaron como progenitores femeninos las variedades LAICA 01-604 (cruce 1) y LAICA 08-390 (cruce 2), debido a su baja cantidad de polen fértil disponible y como macho únicamente a la variedad RB 86-7515.

En el cruce 2 compuesto por la inflorescencia femenina LAICA 08-390 y el macho RB 86-7515, se observó una alta producción de semilla en peso seco, con un promedio de 11,87 g, siendo este el cruce de mayor producción en el ensayo, en cambio en el cruce 1 compuesto por la inflorescencia femenina LAICA 01-604 y el macho RB 86-7515, se obtuvo únicamente 5,97 g por inflorescencia en promedio.

La inflorescencia de LAICA 08-390 según los datos del programa de variedades de DIECA, en la etapa de hibridación 21-22 las inflorescencias de la variedad LAICA 08-390 se utilizó en 8 cruces distintos (4 biparentales y 4 policruces), donde se obtuvo una cantidad de peso seco de la semilla de 18,15 gramos por inflorescencia en promedio, mientras en el presente estudio el promedio fue de 11,87 g. En la variable producción de plántulas por gramo en este estudio se obtuvo 0,5 plántulas y en los cruzamientos realizados en la etapa de hibridación 21-22 en 8 cruzamientos se obtuvo una producción de 1,2 plántulas por gramo (Liga Agrícola Industrial de la

Caña de Azúcar (LAICA), 2022). Esto nos indica que la variedad LAICA 08-390 tuvo una baja producción de plántulas en general.

La variedad LAICA 01-604 se utilizó en 5 ocasiones en la etapa de hibridación 21-22 (4 cruces biparentales y un policruce) donde obtuvo una producción de 9,36 g de semilla en promedio por cruce y en este estudio se logró una producción 5,97 gramos. Con respecto a la producción de plántulas por gramo, en el presente estudio se obtuvo 15,11 plántulas por gramo y en los cruzamientos durante la etapa de hibridación 21-22 se lograron 99 plántulas por gramo utilizando la solución nutritiva de Costa Rica (Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), 2022).

Como indica Caraballos et al. (2015), en la prueba de soluciones nutritivas realizada en Cuba utilizando cinco policruces, indica que el único cruce donde no se detectó diferencia fue el de valores más bajos de la variable, mientras que el de valores más altos diferenció bien las tres variantes de soluciones analizadas, lo que corrobora el alto efecto que tiene el cruce en la variación total.

## 6. CONCLUSIONES

- Las soluciones nutritivas utilizadas en Australia-Ecuador y Guatemala-México no mostraron mejores rendimientos que la utilizada actualmente en Costa Rica, ya que esta produjo más plantas por gramos de semilla.
- El cruzamiento 1 (LAICA 01-604 \* RB 86-7515) presentó valores positivos en relación con la producción de plantas por gramo, evidenciándose como un buen progenitor en programas de mejora que usa LAICA.
- El factor tipo de cruce fue el que produjo el mayor efecto sobre las variables en estudio principalmente en lo que respecta a peso de semillas y número de plantas, por lo que sería necesario contar con una mayor cantidad de cruces para incrementar un efecto positivo.
- La calidad de la semilla en función del número de plántulas producidas no se vio favorecida por la interacción de los factores en estudio.

## **7. RECOMENDACIONES**

- Continuar utilizando la solución nutritiva denominada Costa Rica hasta que no se logre valorar otras soluciones nutritivas disponibles en el mercado.
- Utilizar una mayor cantidad de cruces, debido a que el efecto genético es el que influye mayoritariamente en los resultados
- Aumentar a 4 gramos de semilla por bandeja de siembra cada uno de los cruces realizados, esto con el fin de obtener una suficiente germinación de plántulas por bandeja.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Abrantes, I. (1996). *Aspectos relacionados con la hibridación y la selección*. Jobellanos, Cuba: INICA.
- Amat, J. (30 de Octubre de 2022). *Análisis de normalidad: gráficos y contrastes de hipótesis*. Obtenido de [https://www.cienciadedatos.net/documentos/8\\_analisis\\_normalidad](https://www.cienciadedatos.net/documentos/8_analisis_normalidad)
- Amaya, A., Cock, J., Hernández, A., & Irvine, J. (1995). Biología. En *CENICAÑA: El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia* (págs. 31-62). Cali, Colombia: CENICAÑA.
- Barbosa, G., Cruz, M., Soares, L., Rocha, A., Ribeiro, C., Sousa, A., . . . Santos, A. (2002). A brief report on sugarcane breeding program in Alagoas, Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 613-616.
- Bischoff, K., & Gravois, K. (2004). The development of new sugarcane varieties at the LSU AgCenter. *Journal American Society Sugar Cane Technologist*, 24, 142-162.
- Carballoso, V., Concepción, E., & Quintanilla, M. (2015). Modificaciones en la técnica de solución para cruzamientos de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) en Cuba. *Revista Centro Azúcar* (42):3, 23-29.
- Carvajal, J., Vargas, E., Duran, J., & Chaves, M. (2019). Inducción floral y su importancia en la investigación genética y la producción comercial de la caña de azúcar (*Saccharum spp*) en Costa Rica . *Revista Entre Cañeros N° 12 (DIECA)*, 17-32.
- Castillo, R., & Silva, E. (2004). *Fisiología, floración y mejoramiento genético de la caña de azúcar*. Ecuador: Pubicación Técnica N°3. CINCAE.
- Castro, S. (1996). *Planeamiento y ejecución de un programa de mejora en caña de azúcar*. Jobellanos, Cuba: INICA.
- Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar (CENGICAÑA). (2012). *El cultivo de la caña de azúcar en Guatemala*. (M. Melgar, H. Orozco, O. Pérez, & R. Espinoza, Edits.) Guatemala.
- Chaves, M. (2014). *Competitividad azucarera: un concepto necesario materializar*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Chaves, M. (2014). *Entorno comercial regional y competitividad azucarera costarricense*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Chaves, M. (2017). *Floración en la caña de azúcar*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Chaves, M. (2018). *Genética aplicada a la mejora de las plantaciones comerciales de caña de azúcar*. San José, Costa Rica: LAICA, DIECA.
- Chaves, M. (2021). Indicadores históricos de producción y productividad de la agroindustria azucarera costarricense: análisis del periodo 1969-2019 (51 zafras). *Revista Entre Cañeros*(19), 9-67.
- Chaves, M., & Barquero, E. (2020). *Guía de cultivo caña de azúcar región: Zona Norte*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Chaves, M., & Chavarría, E. (setiembre 2013). ¿Cómo se distribuye y dónde se cultiva territorialmente la caña destinada a la fabricación de azúcar en Costa Rica? *Presentado en el Congreso de la*

- Asociación de Técnicos Azucareros de Centroamérica (ATACA), 19, Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica (ATACORI), 20, (págs. 179-203). Hotel Wyndham Herradura, Heredia Costa Rica.*
- Chaves, M., Bolaños, J., Barrantes, J., Rodríguez, M., Angulo, A., Barquero, E., & Calderón, G. (2020). *Censo de variedades de caña de azúcar de Costa Rica año 2019*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Cursi, D., Hoffmann, H., Barbosa, G., Bressiani, J., Gazaffi, R., Chapola, R., . . . Carneiro, M. (2022). History and Current Status of Sugarcane Breeding, Germplasm Development and Molecular Genetics in Brazil. *Sugar Tech 21(1)*, 112-133.
- Dávila, L. (2019). Efectos del ácido sulfúrico producido por la máquina SAG en la productividad del cultivo de rosas (*Rosa sp.*). *Tesis de Maestría en Gestión de Agroempresas y Agronegocios*. Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.
- Diniz, C. (2016). Potencial fisiológico de sementes e produção de plântulas de cana-de-açúcar em hibridações da RB92579. *Tesis de Maestría*. Universidade Federal de Alagoas, Río Largo, Brasil.
- Diniz, C., Ferreira, V., Da Silva, C., Barbosa, G., Araújo, J., & Dos Santos, J. (2018). Production and performance of sugarcane seeds (caryopses) from different hybridizations involving RB92579. *Anais da Academia Brasileira de Ciências 90 (4)*, 3243:3248.
- Durán, J. (2021). *Informe de la situación actual del programa de variedades al comite asesor de DIECA*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Durán, J., & Oviedo, M. (agosto 2015). La hibridación de la caña de azúcar en Costa Rica. ¿Que se ha hecho? *Trabajo presentado en el Congreso Tecnológico del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar, 6*. CoopeVictoria, Grecia, Costa Rica.
- Durán, J., Carvajal, J., & Villalobos, C. (2018). *Proceso de selección y mejoramiento genético de variedades de la caña de azúcar en Costa Rica*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA (Brochure).
- Durán, J., Oviedo, M., Carvajal, P., Araya, A., Vargas, E., Quesada, C., & Fonseca, R. (2018 agosto). Desarrollo de nuevas variedades de caña de azúcar en la región Norte. *Presentado en el Congreso Tecnológico DIECA 2018, 7* (pág. 23). Colegio Agropecuario de Santa Clara, Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica: LAICA-DIECA.
- Favela, E., Preciado, P., & Benavides, A. (2006). *Manual para la preparación de soluciones nutritivas*. Torreón, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Flores, S. (2001). *Las variedades de caña de azúcar en México*. México, DF.
- González, R. (2019). *Variedades de caña de azúcar cultivadas en Cuba. Cronología, legislación, metodologías y conceptos relacionados*. La Habana, Cuba: ICIDCA.
- Heinz, D., & Tew, T. (1987). Hybridization procedures. En D. Heinz, & D. Heinz (Ed.), *Sugarcane improvement through breeding* (págs. 313-342). Amsterdam, Holanda: Elsevier.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2015). *VI Censo Nacional Agropecuario: Resultados Generales*. San José, Costa Rica.

- Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA). (2012). *RB 86-7515*. San José, Costa Rica: LAICA-DIECA (Brochure).
- Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA). (25 de Octubre de 2021). *Productores*. Obtenido de <https://laica.cr/productores/>
- Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA). (2022). *Programa de Variedades informe anual 2021*. San José, Costa Rica: DIECA-LAICA.
- Melloni, M., Melloni, M., Scarpari, M., García, J. L., & Pinto, L. (2015). Flowering of Sugarcane Genotypes under Different Artificial Photoperiod Conditions. *American Journal of Plant Sciences*, *6*, 456-463.
- Mixquititla-Casbis, G., & Villegas-Torres, O. (2016). Importancia de los fosfatos y fosfitos en la nutrición de cultivos. *Acta Agrícola y Pecuaria* *2(3)*, 55-61.
- Molina, L. (2016). Desarrollo y aplicación de técnicas biotecnológicas para la caracterización, selección y mejoramiento genético de la caña de azúcar en Guatemala. (*Tesis de Doctorado*). Universitat Politècnica de Valencia, España.
- Moore, P., Paterson, A., & Tew, T. (2014). Sugarcane: The crop, the plant and domestication. En P. Moore, F. Botha, P. Moore, & F. Botha (Edits.), *Physiology, Biochemistry and Functional Biology* (págs. 1-18). Iowa, USA: Wiley Blackwell.
- Morais, L., Cursi, D., Santos, J., Carneiro, M., Camara, T., Silva, P., . . . Gazzafi, R. (2015). *Melhoramiento genético de cana-de-acucar*. Brasil: Embrapa Tabuleiros.
- Office of the Gene Technology Regulator (OGTR). (2011). *The biology of the Saccharum spp*. Australian Government: Office of the gene technology regulator, .
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT). (15 de Mayo de 2021). *FAOSTAT*. Obtenido de Caña de azúcar: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Pérez, G., De Prada, F., Chinea, A., Bernal, N., & O'Reilly, J. (1997). *Recursos genéticos de la caña de azúcar*. La Habana, Cuba: INICA.
- Polo, P. (2005). Caracterización de la floración en 306 variedades de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) con fines de mejoramiento para dos localidades de la zona cañera de Guatemala. (*Tesis de Licenciatura*). Universidad San Carlos de Guatemala.
- Quintanilla, M. (2012). Perfeccionamiento del manejo de los tallos en solución para hacer más eficientes los cruzamientos de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) en el Centro Nacional de Hibridación. (*Trabajo de Diploma*). Universidad de Sancti Spiritus, La Habana, Cuba.
- Sánchez, D. (2019). Efecto de la distancia de siembra y método de siembra sobre características morfológicas, agrónomicas y composición proximal del cultivo de yuca, en un diseño factorial 2 x 3. *Titulo de Especialista en Estadística Aplicada*. Fundación Universitaria Los Libertadores, Bogotá, Colombia.
- Sentíes-Herrera, H., Trejo-Téllez, L., Gómez-Merino, F., Cadena-Iñiguez, J., Sánchez-García, P., & Volke-Haller, V. (2016 agosto-setiembre). Elementos benéficos en la hibridación de caña de azúcar

(*Saccharum* spp.): Efectos en la fisiología del progenitor masculino durante el cruzamiento. *Presentado en el congreso ATALAC y XXXVIII Convención ATAM 70 Aniversario de Tecnicos Azucareros de Latinoamérica y El Caribe (ATALAC) y Asociación de Técnicos Azucareros de Mexico (ATAM)*, (págs. 47-59). Veracruz, México.

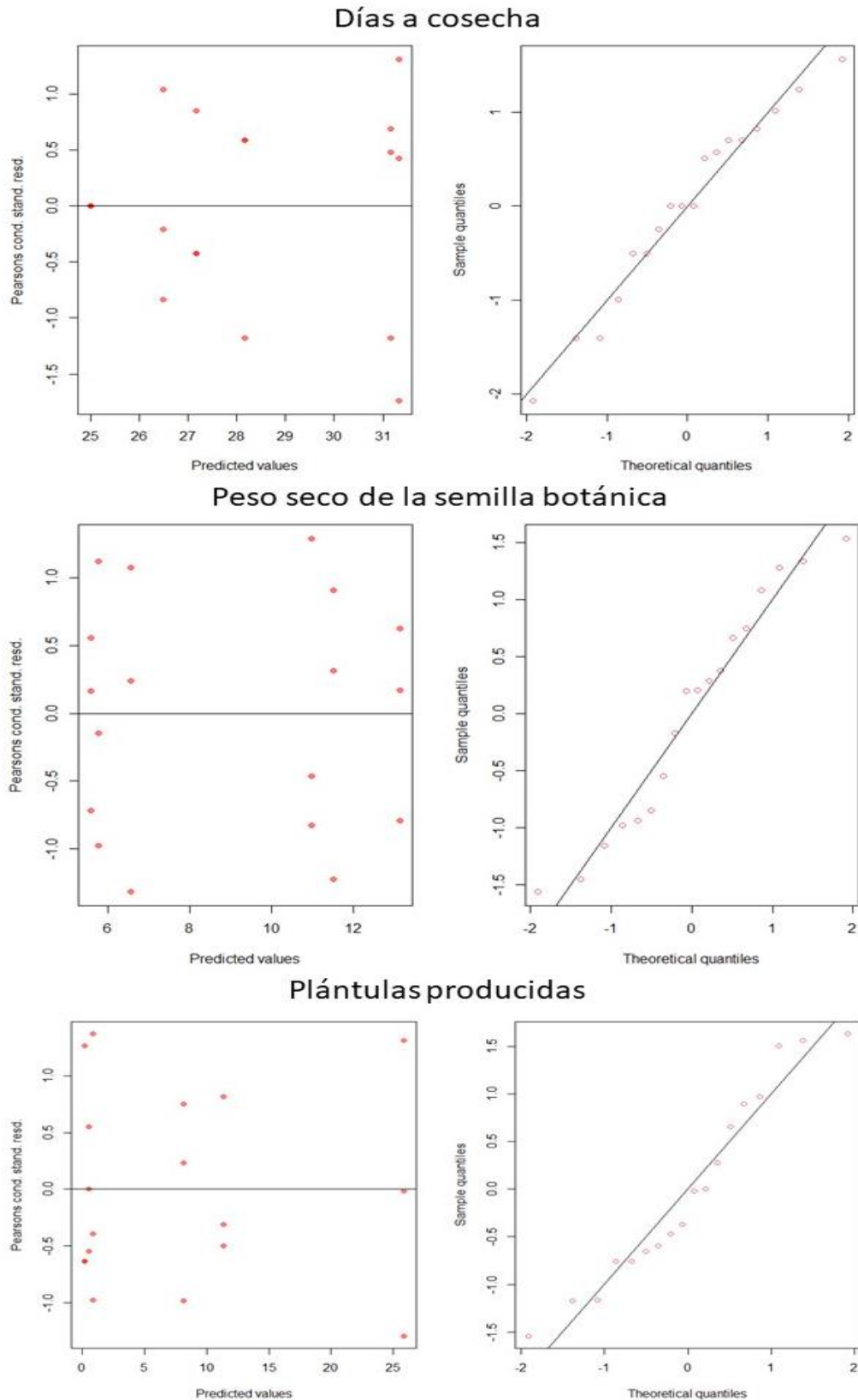
Silva, E., Martínez, F., Madrid, C., & León, T. (Setiembre 2013). La floración en caa de azúcar, su manejo para mejoramiento genetico y en la producción comercial. *III Congreso AETA*, (págs. 1-9). Guayaquil, Ecuador.

Subiros, F. (1995). *El Cultivo de la caña de azúcar*. San José, Costa Rica: EUNED.

Sugarcane Breeding Institute (ICAR). (9 de Octubre de 2022). *ICAR, Coimbatore*. Obtenido de Caña de azúcar: <https://sugarcane.icar.gov.in/index.php/en/2014-04-28-11-31-50/hybridization>

## 9. ANEXOS

**Anexo 1.** Validación gráfica del supuesto de normalidad y residuos para las variables días a cosecha, peso seco de la semilla y número de plántulas producidas en la prueba de soluciones nutritivas en diferentes cruzamientos en caña de azúcar.



**Anexo 2.** Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable días a cosecha.

Medidas de ajuste

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
18	95.02	98.90	-39.51	4.81	0.25	

Cuadro análisis de varianza (Type III SS)

	numDF	F-value	p-value
Modelo	1	584.85	<0.0001
Solución	2	0.10	0.9063
Cruce	1	0.11	0.7447
Solución: cruce	2	1.85	0.1989

**Anexo 3.** Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable peso seco de la semilla botánica.

Medidas de ajuste

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
18	64.02	67.90	-24.01	0.83	0.83	

Cuadro análisis de varianza (Type III SS)

	numDF	F-value	p-value
Modelo	1	507.76	<0.0001
Solución	2	1.42	0.2804
Cruce	1	55.56	<0.0001
Solución: cruce	2	0.19	0.8278

**Anexo 4.** Análisis de varianza para la evaluación de las soluciones nutritivas y cruces en la variable plántulas producidas.

Medidas de ajuste

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
18	84.96	89.81	-32.48	18.63	0.46	

Cuadro análisis de varianza (Type III SS)

	numDF	F-value	p-value
Modelo	1	8.44	0.0132
Solución	2	1.15	0.3495
Cruce	1	7.39	0.0187
Solución: cruce	2	1.05	0.3804

**Anexo 5.** Promedio de días a cosecha de las inflorescencias femeninas obtenido en la estación experimental DIECA durante las últimas seis etapas de cruzamientos.

<b>Periodo</b>	<b>Días a cosecha</b>
16-17	27,35
17-18	30,90
18-19	28,73
19-20	26,9
20-21	26,53
21-22	35,00
<b>Promedio</b>	<b>29,235</b>

Fuente: Programa de variedades DIECA-LAICA, información historica 2016 - 2022

**Anexo 6.** Peso seco de la semilla (gramos) obtenido en los cruzamientos realizados en la estación experimental DIECA durante los últimos seis periodos de hibridación.

<b>Periodo</b>	<b>Peso seco de la semilla (gramos)</b>
16-17	11,60
17-18	14,15
18-19	15,30
19-20	14,19
20-21	12,27
21-22	15,26
<b>Promedio</b>	<b>13,79</b>

Fuente: Programa de variedades DIECA-LAICA, información historica 2016 - 2022

**Anexo 7.** Sexado de las variedades de caña de azúcar utilizadas en la prueba de soluciones nutritivas

<b>Variedad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Polen Fértil</b>	<b>Polen Infértil</b>	<b>Total de polen</b>	<b>% de fertilidad</b>
RB 86-7515	1	52	75	127	40,94
RB 86-7515	2	63	180	243	25,92
RB 86-7515	3	80	130	210	38,09
LAICA 01-604	1	0	31	31	0
LAICA 01-604	2	0	26	26	0
LAICA 01-604	3	0	75	75	0
LAICA 08-390	1	0	20	20	0
LAICA 08-390	2	0	31	31	0
LAICA 08-390	3	0	23	23	0

**Anexo 8.** Cruzas biparentales de caña de azúcar a evaluar.

<b>Padre/Madre</b>	<b>LAICA 01-604</b>	<b>LAICA 08-390</b>
<b>RB 86-7515</b>	LAICA 01-604 * RB 86-7515	LAICA 08-390 * RB 86-7515
<b>Cruce</b>	Cruce 1	Cruce 2

Fuente: Elaboración propia