

CONSERVACION DE MERISTEMOS DE CAÑA DE AZUCAR (SACHARUM OFFICINARUM) EN ACEITE MINERAL

L. Cabrera Rabí

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 10 de junio de 1989
Recibido: 27 de diciembre de 1989

ABSTRACT. In this paper it has been shown the possibility of sugar cane shoot tips preservation at low temperatures in mineral oil for seven days. An experimental design was made to study the effect of three variables that were the following: temperature, medium employed in preculture and sugar cane variety. Of the tested variables temperature, culture medium and the interaction variety-temperature were significant. The higher percentages of survival were obtained at temperature 0 °C although at -8 °C, 60 % survival was obtained with Cuba 8751 variety. This work allows the beginning of studies on the preservation of sugar cane shoot tips for longer periods.

RESUMEN. En este trabajo se demostró la posibilidad de conservar meristemos de caña de azúcar en aceite mineral a bajas temperaturas por un período corto. Mediante un diseño experimental se estudió el efecto de la temperatura, tipo de caña empleada y el medio de precultivo en la conservación de los meristemos, resultando significativos la temperatura de conservación y el medio de precultivo empleado, así como la interacción variedad de caña-temperatura de conservación. Los mayores índices de supervivencia se obtuvieron a la temperatura de 0 °C, aunque a -8 °C aquella alcanzó el 60 % con la variedad Cuba 8751. Este trabajo creó las condiciones para llevar a cabo estudios de conservación a más largo plazo.

INTRODUCCION

La utilidad de la conservación de meristemos vegetales radica en la posibilidad de conservar y preservar importantes especies¹ ya que las técnicas de cultivo in vitro son ampliamente utilizadas para la propagación y producción de progenitores genotípicamente idénticos y libres de patógenos.

Durante muchos años se ha trabajado con el objetivo de encontrar formas de conservar distintos tejidos y células vegetales. Uno de los primeros experimentos realizados para conservar material vegetal mediante limitación del crecimiento fue realizado en cultivo de callos mantenidos bajo una capa de aceite mineral.² Se propuso³ la conservación de meristemos de papa y guisantes en el estado subenfriado utilizando como medio de dispersión aceite mineral. La hipótesis se basa en el hecho de que el aceite no cristaliza en el rango de temperatura utilizado, de tal forma que no existe nucleación del hielo en el medio externo teniendo en cuenta los trabajos realizados por Franks^{4,5} que demostraron que las células vegetales pueden ser subenfriadas a temperaturas inferiores a -20 °C antes que el hielo se nuclea espontáneamente dentro de la célula. De esta forma se desarrolla un método de conservación que utiliza bajas temperaturas para inhibir la actividad metabólica en la célula.

El objetivo de este trabajo consistió en estudiar la conservación de meristemos de la caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) en aceite mineral a bajas temperaturas para luego iniciar estudios de conservación para largos períodos.

MATERIALES Y METODOS

Los meristemos fueron separados en condiciones estériles a partir de tallos de caña de azúcar.

Se realizó un diseño experimental según un plan factorial 2³ para discernir el efecto de las variables siguientes: tipo de caña empleada, temperatura de conservación y medio de precultivo en la conservación de los meristemos durante una semana de almacenamiento en aceite mineral sobre el índice de supervivencia de los mismos.

Se utilizaron dos variedades de caña de azúcar Cuba 8751 y un Clon de la misma variedad (2-83). En ambos casos se escogieron plantas de 4 a 6 meses de cultivo.

La temperatura más baja utilizada fue -8 °C debido a que a temperaturas inferiores a ella sólo se ha observado supervivencia hasta las 48 h. Como límite superior se escogió 0 °C.

Los medios de precultivo utilizados fueron el medio Muras-hige y Skoog modificado por Kornieva,⁶ el que fue denominado ME y este mismo medio suplementado con un crioprotector, dimetilsul-fóxido (DMSO). Ambos medios se utilizaron en forma sólida y los meristemos fueron precultivados durante 48 h a 25 °C.

La matriz del diseño experimental utilizado empleando variables codificadas es la siguiente:

X ₁	X ₂	X ₃
-1 (-8 °C)	-1	-1
+1 (0 °C)	-1 (8751 Clon 2-83)	-1
-1	+1 (C 8751)	-1
+1	+1	-1 (ME + +5 % DMSO)
-1	-1	+1 (ME)
+1	-1	+1
-1	+1	+1
+1	+1	+1

X₁ temperatura de conservación; X₂ variedad de caña empleada y X₃ medio de precultivo empleado

Cada experiencia se llevó a cabo con 10 meristemos y por duplicado.

Al cumplirse las 48 h de precultivo los meristemos fueron extraídos y situados en viales de cristal que contenían aproximadamente 1 mL de aceite mineral y se sellaron herméticamente situándose en cámaras refrigeradas a la temperatura seleccionada. Al cabo de 7 d los viales fueron calentados rápidamente situándolos en un baño con agua a 30 °C e inmediatamente se cultivaron en el medio ME sólido situándose en condiciones apropiadas (25 °C y 4 000 lux con un fotoperíodo de 16 h/d).

El índice de supervivencia fue estimado por el número de meristemos que crecieron después de las experiencias y expresado en % con respecto al número inicial.

Para realizar el análisis estadístico de los resultados los índices de supervivencia expresados en % se transformaron mediante la ecuación:

$$y = 100 \arcsen \sqrt{\%/100} \quad (1)$$

donde y corresponde a la variable transformada o variable dependiente en la ecuación de regresión y % al índice de supervivencia obtenido.

El cálculo de la varianza del error puro se efectuó a partir de las réplicas de cada punto experimental. Los coeficientes de los polinomios ajustados y el ajuste de los modelos se determinaron por los métodos usuales.⁷

Se escogió como criterio para seleccionar los coeficientes significativos aquellos superiores al doble de su desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos de la aplicación del diseño experimental se muestran en la Tabla I.

TABLA I

Valores experimentales obtenidos expresados como índice de supervivencia y los valores que corresponden a la variable transformada

Punto experimental	Índice de supervivencia (%)	Variable dependiente transformada
1	10	23,0
2	60	89,0
3	0	0
4	20	46,0
5	0	0
6	100	157,0
7	60	89,0
8	70	113,0

La ecuación de regresión después de eliminar los coeficientes no significativos queda se transformó en:

$$y = 64,7 + 36,7 X_1 + 25,1 X_3 - 19,0 X_1 X_2 \quad (2)$$

Las variables que resultaron significativas fueron la temperatura de conservación (X_1) y el medio utilizado para el precultivo (X_3).

La temperatura de conservación incide de forma positiva, o sea, los mejores resultados se obtuvieron a la temperatura superior (0 °C). De los dos medios de precultivo empleados el ME ($X_3 = +1$), brindó igualmente los mejores resultados en comparación con el que se le adicionó DMSO. Se conoce que este compuesto tiene efecto tóxico en algunos órganos y tejidos⁸ y es posible que la concentración de utilizada 5 % haya sido alta para este cultivo, tal como se reporta para guisantes, yuca y tomate.⁹

Aunque los dos tipos de caña empleadas no influyen significativamente por sí solas en los resultados, si se confirma una interacción negativa entre éstos y la temperatura de conservación empleada. Así, la variedad Cuba 8751, resulta más resistente a la temperatura de -8 °C cuando se emplea el medio ME que cuando se utiliza el Clon 2-83.

De los resultados experimentales (Tabla I) se observa que se logran los mejores a la temperatura de 0 °C, ya que la actividad

metabólica puede ser muy reducida evitándose los riesgos de la congelación⁸

Debe tenerse en cuenta que aunque a 0 °C se obtuvieron altos valores de supervivencia el tiempo de almacenamiento no fue prolongado lo cual también provocó una rápida recuperación del tejido al ser restablecidas las condiciones normales de cultivo. Es por esto importante el resultado obtenido con la variedad Cuba 8751 la cual parece resistir mejor la temperatura más baja sin ser sometida al tratamiento anterior con el crioprotector.

Estos resultados indican la posibilidad de emplear la conservación en aceite mineral para los meristemos de caña de azúcar. La experiencia desarrollada demuestra la influencia de la variedad de caña empleada en los resultados.

Se demostró la posibilidad de aplicar la técnica de conservación en aceite mineral para los meristemos de caña de azúcar. Aunque el tiempo de conservación empleado fue de sólo 7 d se evidenció que la temperatura de conservación influye decisivamente en la supervivencia de estos meristemos, así como la interacción entre ésta y el tipo de caña empleada.

La adición de DMSO en el medio de precultivo en un 5 % no ejerció efecto positivo en el índice de supervivencia alcanzado.

Los resultados servirán de base para realizar estudios de conservación con esta técnica a largo plazo.

BIBLIOGRAFIA

1. Withers L.A. In Vitro Conservation. IBPGR Research Highlights, 64-85, 1986.
2. Caplin S.M. *Am. Journal of Botany*, 46, 324, 1959.
3. Mathias S. *Cryobiology*, 22, 537, 1985.
4. Franks F. *Cryo-Letters*, 1, 221, 1980.
5. Franks F. *Cryobiology*, 20, 298, 1983.
6. Kornieva S. Solicitud de Patente RPI-9688, Cuba, 1988.
7. López Planes R. Notas de estadística y Diseño Estadístico. 2da. parte, Folleto CENIC, 1977.
8. Withers L.A. Low Temperature Storage of Plant Tissue Cultures. *Advances in Biochem. Eng. Plant Cell Cultures II*, Vol. 18, 102, Springer Verlag, Berlín, 1980.
9. Kartha K. Meristem Culture and Gerplasm Preservation. *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*. CRC, 1985.

SURFAX

Este equipo se emplea en la medición de la tensión superficial en fluido amniótico. Requiere solamente 2 min y 1,5 mL de líquido y diagnostica la madurez pulmonar fetal con una precisión igual o mayor a otras pruebas corrientemente en uso que requieren procedimientos de laboratorio por varias horas.

SURFACTOMETRO PARA EL ANALISIS DE LA MADUREZ PULMONAR FETAL EN EL NIÑO RECIEN NACIDO

Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Avenida 25 y calle 158, Cubanacán, Playa

Ciudad de La Habana, Cuba

Apartados Postales 6880 y 6990

Teléfono: 21 8066 Télex: 51 1582 CNIC CU

PRODUCIDO Y EXPORTADO POR:®
PRODUCED AND EXPORTED BY:

