

Michael Crespo González¹, Lourdes Yabor Cabrera²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

²Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez". Carretera a Morón Km 9. Ciego de Ávila. Cuba.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han demostrado cambios climáticos que han influido una marcada diferencia en la respuesta de las variedades de caña en los distintos tipos de suelos, esto se ha materializado en considerables afectaciones desde el punto de vista financiero y climatológico, de este último la salinidad se considera el mayor estrés abiótico que perjudica la productividad y calidad de las cosechas, y se estima que tienda a agravarse a medida que el cambio climático genere mayor aridez y deterioro de la calidad de agua de riego conduciendo a la desertificación, sumando a esto se encuentran las escasas precipitaciones, la alta evaporación y el mal drenaje. Existe una amplia distribución de los suelos salinos y salinizados a nivel mundial, destacándose que estos ocupan entre un 40-50 % de toda el área del planeta, cuya extensión crece a razón de 3 hectáreas (ha) por minuto (min). En la búsqueda de alternativas tendientes a mantener o mejorar la productividad agrícola de áreas salinizadas se han propuesto varias técnicas como el lavado y mantenimiento de un adecuado nivel de humedad sin embargo la escasez de agua característica de zonas áridas y semiáridas dificulta la implementación de las mismas por lo que es importante la caracterización e identificación de materiales vegetales que se adapten a tales condiciones. Los principales problemas de estrés salino son originados por sales de sodio particularmente por el cloruro de sodio cuyos efectos más importantes son el estrés osmótico, el desbalance iónico y la toxicidad que produce la acumulación de iones cloruro y sodio sobre los procesos metabólicos. El cloruro de sodio (NaCl) ha sido utilizado para simular condiciones de salinidad en sistemas de micropropagación, produce cambios en la multiplicación *in vitro* y en los niveles de fenoles, aldehídos y clorofilas, los que pueden servir de marcadores de tolerancia a la salinidad en los programas de mejoramiento genético, observándose además mayores coeficientes de multiplicación y mejor comportamiento de las plántulas *ex vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal:

Los meristemos de caña de la variedad (cv. C-1051-73) procedentes de plantas cultivadas en campo se cultivaron siguiendo el protocolo de Jiménez et al. (1995). Las plantas de caña de azúcar cultivadas *in vitro* se subcultivaron cuatro veces para usarlas como explantes. Los subcultivos se realizaron a intervalos de 30 días. Cada determinación bioquímica partió de tres muestras independientes que fueron agrupadas (100 mg cada una) y finamente maceradas (0,1 g) en nitrógeno líquido, se mezclaron con 1,4 mL de agua destilada y se agitaron ligeramente.

Medio de cultivo

Se implementaron los BIT descritos en la Figura 1. Se utilizó el medio de cultivo empleado por Jiménez et al. (1995) modificado por Lorenzo et al. (1998) compuesto por: sales inorgánicas MS 10 mg L⁻¹ y vitaminas MS 10 mg L⁻¹; 100 mg L⁻¹ inositol (Murashige y Skoog, 1962); 30 g L⁻¹ sacarosa, 0,3 mg L⁻¹ 6-benciladenina y 1,0 mg L⁻¹ paclobutrazol. Se suplementaron con diferentes niveles de NaCl al medio de cultivo al principio del subcultivo: 0, 50, 100, 150, 200 mM. Cada tratamiento involucró tres biorreactores (5 explantes/biorreactor).

Condiciones de cultivo

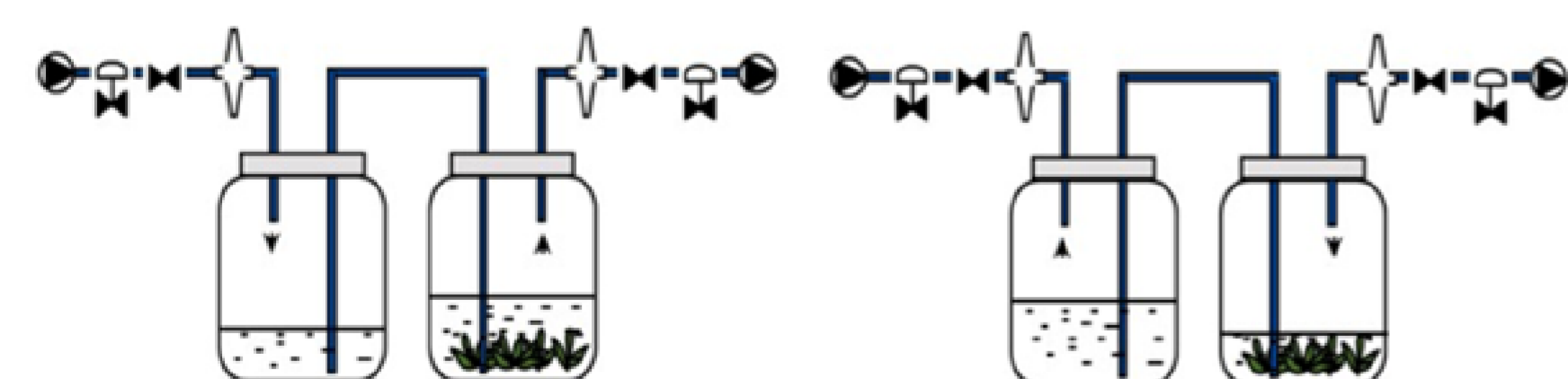
Los cultivos se mantuvieron a 25 ± 1 °C; 30 μmol m⁻²s⁻¹ (luz fluorescente) y fotoperíodo de 8 horas (8 h luz, 16 h oscuridad). A los 30 días, se determinó el coeficiente de multiplicación de los brotes, la masa fresca de los *clusters* y los niveles de malondialdehído (MDA), otros aldehídos, clorofilas a y b, carotenoides y compuestos fenólicos (solubles en el material vegetal, unidos a la pared celular y presentes en el medio de cultivo). Las muestras de tejido vegetal se obtuvieron de tres replicas independientes de 100 mg cada una (una por cada biorreactor). Al indicador coeficiente de multiplicación se le determinó la Dosis Reductiva Media, para lo cual se siguió la metodología empleada por Salazar et al. (2014).

Determinación de indicadores morfofisiológicos:

El coeficiente de multiplicación se determinó según el número de brotes. Para determinar la Dosis Reductiva Media se determinó el coeficiente de multiplicación máximo para la concentración de 0 mM y el coeficiente de multiplicación mínimo para 200 mM de cada tratamiento. Para determinar la masa fresca se empleó la balanza analítica donde se pesaron los *clusters* procedentes de cada SIT de forma independiente.

Determinación de indicadores bioquímicos:

Aldehídos y malondialdehído, clorofilas, carotenoides y fenoles. El contenido de fenoles solubles en el medio de cultivo también se evaluó.



Paso 1: Transferencia del medio de cultivo desde el contenedor de medio de cultivo hasta el contenedor de la planta.

Paso 2: Transferencia del medio de cultivo del contenedor de la planta hasta el contenedor de medio de cultivo.

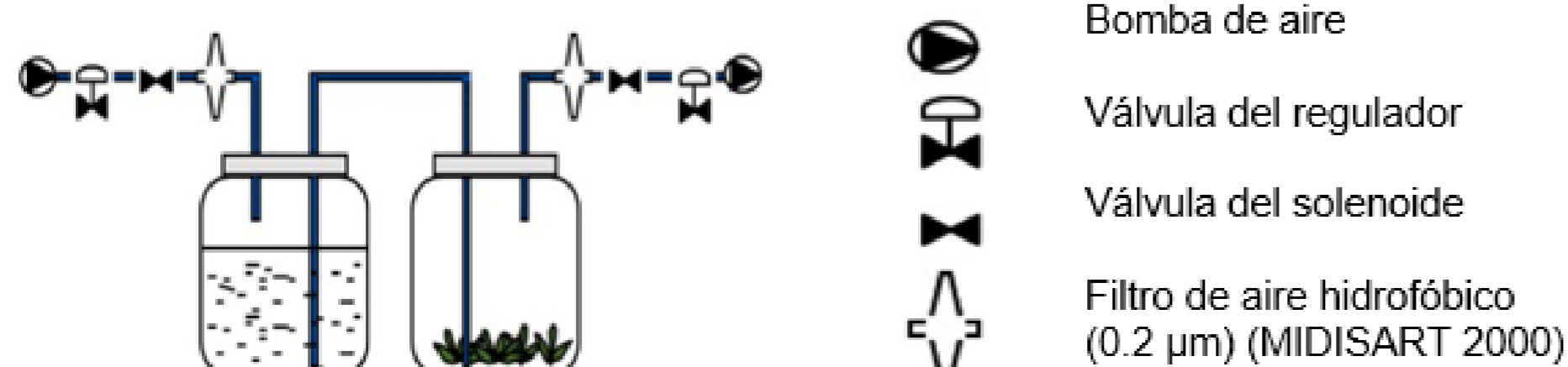
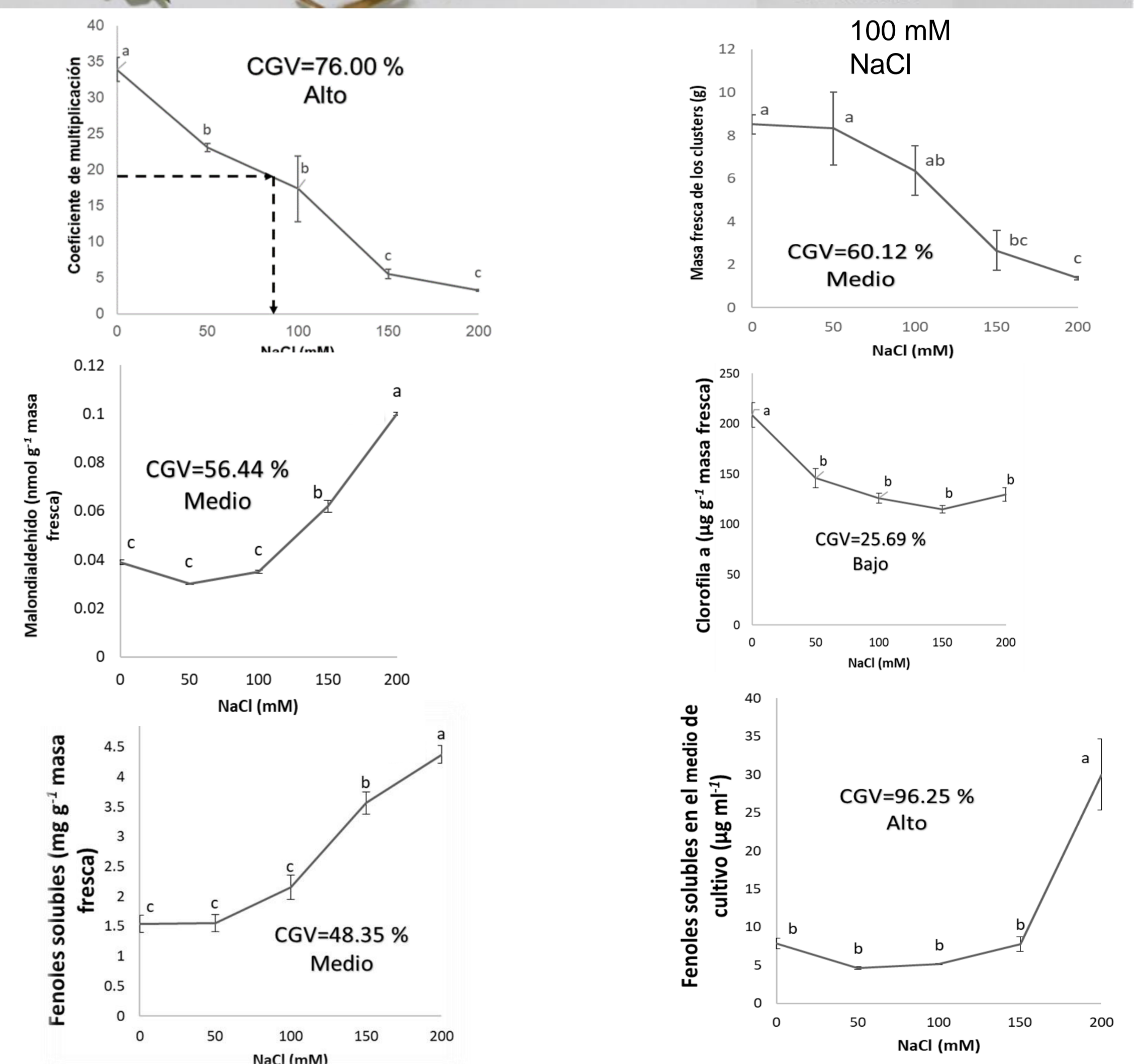
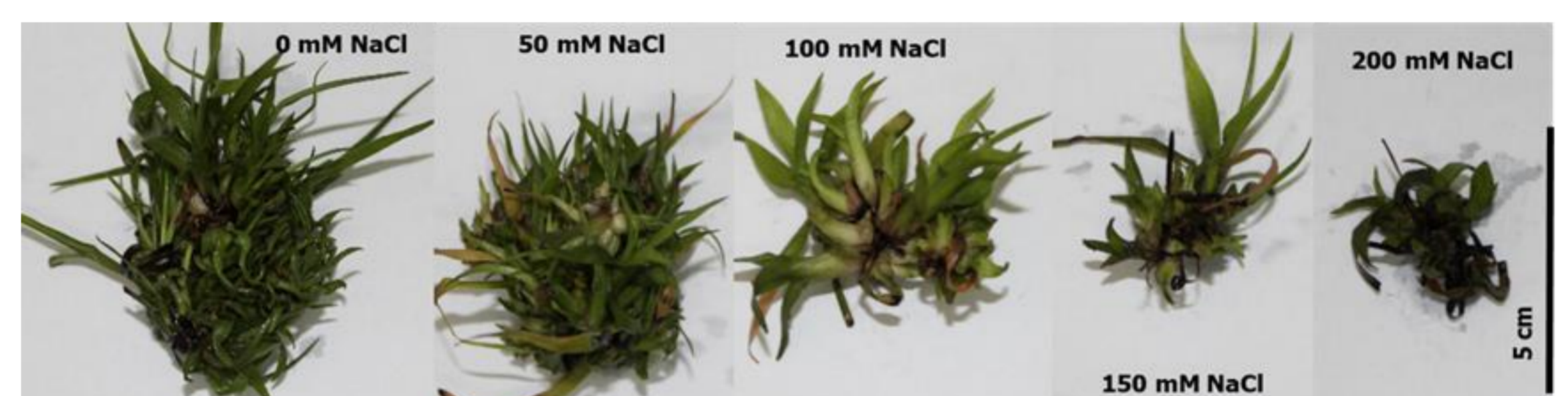


Figura 1. Diseño y modo de operación de un Sistema de Inmersión Temporal. Inmersiones (de 2 minutos) cada 3 horas durante 30 días.

RESULTADOS



REFERENCIAS

- Ahmad, P. y Sharma, S. (2008) Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil and Environment* 54: 89-99.
- Akter, S., Alam, N. y Roy, P. K. (2016) Improvement of sugarcane (*Saccharum officinarum* L. var. Isd. 39) using gamma irradiation and large scale plantlet production from M1 generation through *in vitro* culture. *Jahangirnagar University Journal of Biological Sciences*. 5: 1-9.
- Bernal, A., Occeguera, Z., Jiménez, M., Rivera, O., García, L. y de Fera, M. (2002) Use of the Temporary Immersion Systems for sugar cane vitroplants production. *Biología Vegetal*. 2: 201-206.
- Hanin, M., Ebel, C., Ngom, M., Laplaze, L. y Masmoudi, K. (2016) New Insights on Plant Salt Tolerance Mechanisms and Their Potential Use for Breeding. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1787.
- Lorenzo, J. C., Yabor, L., Medina, N., Quintana, N. y Wells, V. (2015) Coefficient of variation can identify the most important effects of experimental treatments. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 43.
- Orellana-Pérez, P. y Peña-González, P. (2003) Caracterización *in vitro* de la respuesta al NaCl en callos en las fases de multiplicación y regeneración de varios genotipos de arroz. *Biología vegetal*. 3: 13-18.