

METODO BIOQUIMICO PARA LA EVALUACION DEL EFECTO DEL ESTRES SALINO SOBRE LA CAÑA DE AZUCAR. ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE ANALISIS

P. Díaz, A. Ruíz, R.H. Maribona y L. Iglesias*

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana
e * Instituto Nacional de Ciencias Agropecuarias, La Habana

Recibido: 27 de diciembre de 1988

Recibido: 23 de abril de 1990

Recibido: 23 de enero de 1991

ABSTRACT. A rapid method for biochemical evaluation of saline effect on sugar cane is proposed. This method is released by the conductivity measurement of electrolitical extrusion of leaves previous incubation in the stress agent. It has been established the experimental conditions to produce a differential response to this effect in two sugar cane varieties; Ja 60-5 and C 8751. The influence of plant age and leaves zones in the damage produced by saline stress is demonstrated.

RESUMEN. Se propone un método rápido para la evaluación bioquímica del efecto del estrés salino sobre la caña de azúcar el cual consiste en la medición conductimétrica de la extrusión de electrolitos por el tejido foliar, previa incubación en el agente estresante. Se establecen las condiciones experimentales que provocan una respuesta diferencial a este efecto en dos variedades de la caña de azúcar: Ja 60-5 (tolerante) y C 8751 (susceptible). Se demuestra la influencia de la edad de la planta y de la zona de la hoja en la afectación producida por este tipo de estrés.

INTRODUCCION

La utilización de marcadores genético-bioquímicos para el diagnóstico precoz de la resistencia a enfermedades y al estrés ambiental es una temática novedosa en la caña de azúcar.

Las altas concentraciones de sales en los suelos provocan una penetración anormal a las plantas, de iones tales como Na^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , etcétera. Este fenómeno provoca daños severos en los mecanismos de transporte a nivel de las membranas.¹

Por otra parte, se ha demostrado que la medición de la conductividad de los electrolitos a través de la membrana guarda estrecha relación con los agentes causantes de los daños a ese nivel.²

Teniendo en cuenta la importancia de disponer de criterios de selección rápidos que permitan la detección de forma precoz de variedades con cierto grado de resistencia a la salinidad, se decidió realizar el presente trabajo con el objetivo de establecer las condiciones experimentales para estudiar las variaciones de la conductividad de los iones a través de las membranas del tejido foliar, inducidas por el estrés salino. Comprobar además, cómo puede influir en esta respuesta la edad de la planta y la zona de la hoja que se emplee en análisis.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal. En este trabajo se utilizaron hojas de 2 variedades de la caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido), Ja 60-5 y C 8751 que en las condiciones de campo han mostrado un comportamiento de tolerancia y susceptibilidad respectivamente a la salinidad.

Se utilizaron las hojas + 3, según la clasificación de Kuiper³ de plantas de 6 a 8 meses de edad.

Para la determinación de la influencia de la edad de las plantas se tomaron además, hojas de edad inferior a los 3 meses de las variedades estudiadas. Estas hojas se lavaron con agua corriente y se incubaron en una cámara húmeda por espacio de 24 h a 25 °C.

El efecto de las diferentes zonas de las hojas se determinó mediante la medición de la longitud y el corte de las hojas en tres tercios:

- Zona 1 De la base al centro
- Zona 2 Parte central de hoja
- Zona 3 Apice de la hoja

Cada fragmento se analizó como una unidad independiente.

Determinación de las condiciones óptimas para la medición de la conductividad en hojas. Se pesaron 0,04 g de hojas (8 discos hechos con una ponchadora de oficina) y se incubaron en 5 mL de solución salina a concentraciones y tiempos variados. Los discos de las hojas sometidos a estrés salino se lavaron con agua corriente, destilada y desionizada. Al comprobar la eliminación de las sales presentes, se les añadió 10 mL de agua desionizada a cada muestra.

En estas condiciones se midió la conductividad a las 0; 3; 6; 9 y 12 h de extrusión de los electrolitos. Se realizaron 3 réplicas con tres repeticiones. El experimento se desarrolló a 25 °C. El modelo de conductímetro empleado fue EQ-401A (CNIC).

Análisis estadístico. Los valores de conductividad de los distintos experimentos realizados fueron sometidos a análisis de varianza bifactorial de efectos fijos a fin de poner de manifiesto el efecto de las diferentes fuentes de variación y sus interacciones. Se representa gráficamente la cinética de extrusión de electrolitos al medio. Los valores de las medias de conductividad se procesaron estadísticamente por la prueba de comparación de medias de Duncan para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinación de las condiciones óptimas. En la figura 1 se puede comprobar que a las 24 h de incubación del tejido foliar en una solución de NaCl al 3 % se obtienen respuestas diferenciales con los mayores valores de conductividad eléctrica, entre las dos variedades estudiadas. Estas diferencias en los valores de conductividad se aprecia de forma más pronunciada a las 6 h de extrusión de electrolitos. A partir de este tiempo las variaciones fueron mínimas. A las 12 h de extrusión el efecto que se manifiesta aún no satura el sistema.

A las 48 h de incubación se manifestó una disminución considerable de los valores de conductividad. Esta disminución pudiera ser debido entre otras causas, a la destrucción de los mecanismos de transporte de la membrana, provocada por las condiciones extremas a que se sometió el tejido foliar.

En la figura 2 se observa que a bajas concentraciones, la variedad C 8751, conocida como susceptible a la salinidad bajo las condiciones de producción, manifestó contradictoriamente, valores menores de conductividad que la Ja 60-5 que se conoce se comporta como tolerante a la salinidad. Esto puede deberse a que la Ja 60-5 posea mayor contenido específico de sales en sus tejidos que la C 8751. Esta diferencia en el contenido de sales puede permitir una salida de electrolitos al medio ante el estrés salino para amortiguar los cambios bruscos hasta un cierto valor, donde el efecto es letal.

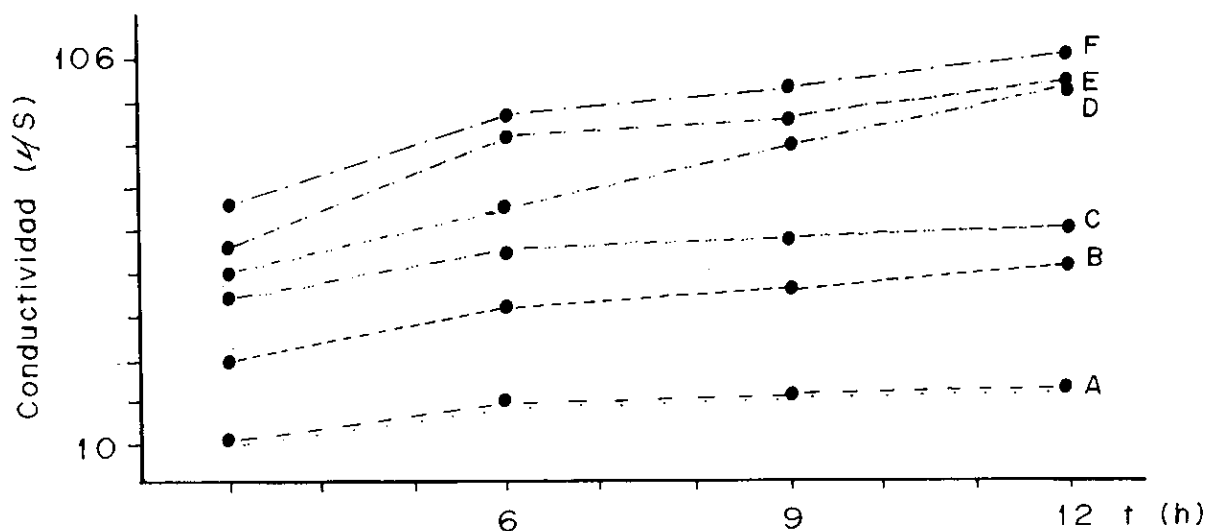


Fig. 1. Cinética de extrusión de electrolitos a las 3 h de incubación en NaCl al 3 %
Variedad C 8751: A 12 h, E 48 h, F 24 h; Variedad Ja 60-5: B 12 h, C 48 h, D 24 h

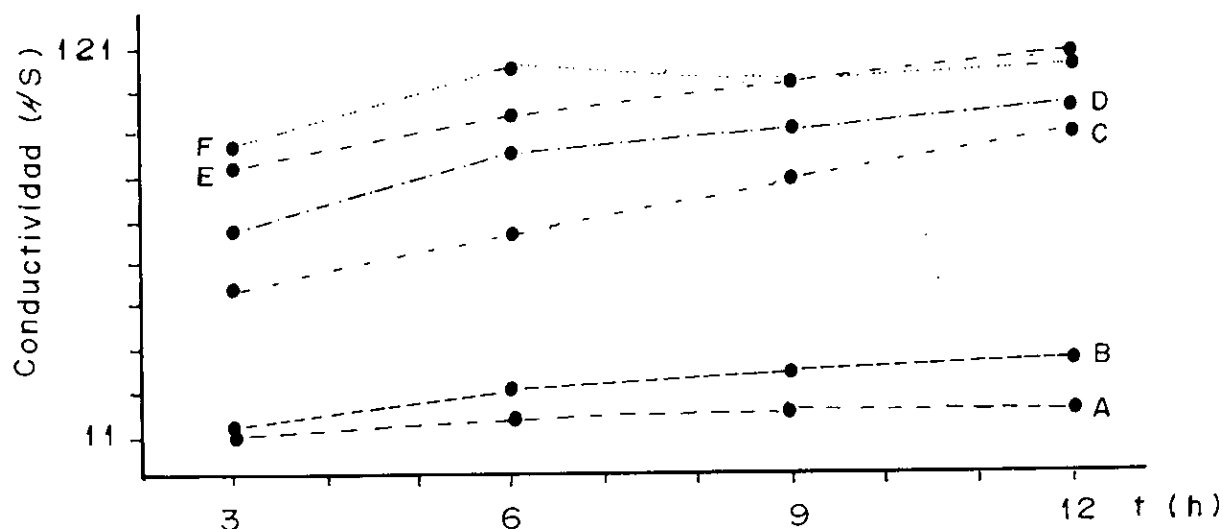


Fig. 2. Cinética de extrusión de electrolitos a diferentes tiempos de incubación para tres concentraciones de NaCl.
Variedad C 8751: A 1,5 %, D 3,0 %, E 5,0 %; Variedad Ja 60-5: B 1,5 %, C 3,0 %, F 5,0 %

Algunos autores^{4,5} sustentan la teoría de que la tolerancia al estrés salino es expresada a nivel celular. De esta forma se ha señalado que la resistencia a la salinidad en un sentido amplio implica dos mecanismos: la eliminación de una concentración excesiva de iones en el tejido (referido también como extrusión salina) y la tolerancia de concentraciones excesivas de iones, lo cual puede contribuir a la eliminación de sales inducidas por estrés hídrico; lo que sustenta los resultados anteriores.

En la variedad C 87-51, los valores de la conductividad varían poco para la baja concentración estudiada. Para el 3 y 5 % de NaCl estos aumentan considerablemente. Este fenómeno se puede interpretar como una afectación severa de los mecanismos de transporte en la membrana. Estos resultados pudieran estar relacionados con algún mecanismo de resistencia de estas variedades.

Estos resultados se corresponden con los del esquema de selección *in vitro*,⁶ donde a 1,5 % de NaCl añadido al medio se obtiene un crecimiento diferencial entre los genotipos. Teniendo en cuenta que el medio de cultivo utilizado cuenta con diversas sales que aportan iones al medio, se puede inferir que las concentraciones de sales que ocasionan el estrés sean superiores a 1,5 % de NaCl.

En estas pruebas el error estándar de la media y el coeficiente de variación fueron respectivamente 3,86 y 9,41 %.

Influencia de la edad de la planta en las variaciones de la conductividad ante el estrés salino. En la Tabla I se muestran los resultados de la determinación de la conductividad en plantas de diferentes edades.

TABLA I

Valores de la conductividad en plantas de diferentes edades

Variedad	Menores de 3 meses	6 a 8 meses
C 8751	94,66 a	63,5 c
Ja 60-5	77,25 b	50,2 d

DEX 2,30; CV 5,653 %

Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas según dócima de Duncan ($p \leq 0,05$)

En los análisis estadísticos se comprobó la existencia de diferencias significativas entre los genotipos, edades y la interacción genotipo por edad. De esta forma se constató que los valores de conductividad eran mayores en las plantas de menor edad que en las adultas. Es posible concluir que los estadios juveniles parecen ser más susceptibles a las altas concentraciones de sales que las plantas adultas. En condiciones de campo se ha

podido comprobar, que las plantas sembradas en suelos salinos no crecen, lo que reafirma la susceptibilidad a la salinidad de las plantas en los primeros estadios de crecimiento. Se mantuvo la respuesta diferencial entre las dos variedades estudiadas.

Influencia de las zonas de las hojas en las variaciones de la conductividad producida por el estrés salino. En la Tabla II se muestran los valores de la conductividad en las diferentes zonas de la hoja.

Sólo se encontraron diferencias significativas en los genotipos en estudio, no así en las diferentes zonas de las hojas analizadas ni en la interacción de genotipos por zonas.

No obstante los resultados anteriores, para evitar riegos en las mediciones, se recomienda que al evaluar una variedad por este método, en todos los casos, se tomen los discos (las muestras) de diferentes zonas y se mezclen.

TABLA II

Valores de la conductividad en las diferentes zonas de las hojas

Variedades	Ja 605	C 8751
Zona 1	30,3 a	54,6 b
Zona 2	45,0 a	60,6 b
Zona 3	50,3 a	61,6 b

DEX 3,01; CV 10,12 %

Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas según dócima de Duncan ($p \leq 0,05$)

CONCLUSIONES

Ha sido establecido un método bioquímico que permite la evaluación masiva de la resistencia de las variedades de caña a la salinidad. Se establecen las condiciones óptimas para la medición: 24 h en NaCl 3 % y determinación de la conductividad a las 6 h de liberación de electrolitos para obtener una respuesta diferencial entre las variedades.

Se encontró mayor afectación en las plantas juveniles y no se encontraron diferencias de la conductividad entre las zonas de una misma hoja.

RECONOCIMIENTOS

Se agradece al Lic. Miguel Ramos Leal, del Departamento de Mejoramiento de las Plantas del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, por toda la ayuda prestada en la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Udovenko G.V., Mashanskii V.F. and Sinitkaya I.A. *Sov. Plant Physiol.*, 17, 813, 1970.
2. Meneses S. *Revista de la ATAC*, 6, 11, 1985.
3. Vandillewijn Ph.D. *Botánica de la caña de azúcar*. Edición Revolucionaria, 12-43, La Habana, Cuba, 1975.
4. Orton T.J. *Z. Pflanzenphysiol.*, 98, 105, 1980.
5. Ramagan T.S. and Vasil I.K. *Ann. Bot.*, 51, 59, 1983.
6. Maribona R.H., Korneva S. and Ruiz A. Characterization of sugar cane obtained by tissue culture. Proc. All Union Conf. of Cell and Tissue Culture, Kishinev, USSR, 1983.



VENTILADOR PULMONAR DE ALTA FRECUENCIA

Este equipo se emplea en la microcirugía de laringe, tráquea y bronquios, así como en todo tipo de cirugía con láser. Puede ser utilizado también en salas de terapia intensiva en la atención a pacientes con insuficiencias o paros respiratorios.

Permite el suministro de gases a los pacientes con frecuencias que varían entre 60 y 300 ciclos/min y también modifica los tiempos de inspiración y expiración de acuerdo con la patología que se presente en cada caso. Además se puede utilizar para suministrar otros medicamentos por vías respiratorias.

PRODUCIDO Y EXPORTADO POR:®
PRODUCED AND EXPORTED BY:



Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Avenida 25 y calle 158, Cubanacán, Playa Ciudad de La Habana, Cuba
Apartados Postales : 6880 y 6990 Télex : 51-1582 CNIC CU