

# CULTIVO DE MERISTEMOS APICALES DE PLANTAS DE CAÑA DE AZUCAR CULTIVADAS "IN VITRO"

M.T. González Arnao y C. Urra Villavicencio

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

Recibido: 6 de octubre de 1988

Recibido: 11 de noviembre de 1988

**ABSTRACT.** Apical meristems  $1\ 000\ \mu\text{m} \pm 500\ \mu\text{m}$  long explanted from *in vitro* plants of CU 8751 and JA 60-5 sugar cane varieties were evaluated regarding their growth in two different media: propagation and propagation supplemented with 1 g/L casein hidrolized, both, either in solid or liquid state. The best treatment to regenerate plants from such material was propagation medium solidified with 0,6 % agar (w/v) because, it assures 90 and 50 % viability to CU 8751 and JA 60-5 varieties respectively.

**RESUMEN.** Fue evaluado el crecimiento de meristemos apicales de  $1\ 000\ \mu\text{m} \pm 500\ \mu\text{m}$  de longitud explantados de plantas cultivadas *in vitro* de dos variedades de caña de azúcar: CU-8751 y JA 60-5. Se estudió la influencia de dos variantes de medios de cultivo: de propagación y de propagación suplementado con 1 g/l de hidrolizado de caseína, en estados sólido y líquido. El mejor tratamiento para la regeneración de plantas resultó el medio de propagación solidificado con agar al 0,6 % (p/v) el cual garantiza un 90 y 50 % de viabilidad de la CU-8751 y la JA 60-5, respectivamente.

## INTRODUCCION

El cultivo de meristemos es la forma más utilizada de las que se emplean en el cultivo de tejidos, por la totipotencia de las células meristemáticas y la estabilidad genética en la propagación del material vegetal.<sup>1,2</sup>

Generalmente, los meristemos son explantados con una buena cantidad de primordios foliares, con una altura  $\geq 3\ \text{mm}$ , lo cual no resulta significativo para algunos fines como la propagación, aunque sí resulta determinante para otros tales como la conservación y el saneamiento de plantas.<sup>3</sup>

El daño provocado al tejido por la esterilización externa del material original, puede ser evitado si el explante se realiza a partir de plantas cultivadas *in vitro*, lo que a su vez limita la posibilidad de contaminación.<sup>4</sup>

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el cultivo de meristemos de  $1\ 000\ \mu\text{m} \pm 500\ \mu\text{m}$  de altura, explantados de plantas cultivadas *in vitro* de dos variedades de caña de azúcar, aplicando dos variantes de medio de cultivo en forma sólida y líquida.

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron plántulas de caña de azúcar de dos variedades que presentan un comportamiento diferente frente al cultivo de tejidos, la CUBA 8751, fácilmente adaptable y la JARONU 60-5 ligeramente recalcitrante.

Las plántulas fueron cultivadas durante 20 d a una temperatura constante de  $24\ ^\circ\text{C}$  con un fotoperíodo de 16 h/d y una intensidad de 5 000 lx.

De cada variante se explantaron 10 meristemos con una altura inicial de  $1\ 000\ \mu\text{m} \pm 500\ \mu\text{m}$ , siendo cultivados en placas Petri bajo las mismas condiciones controladas.

La evaluación del crecimiento se realizó por la medición de los regenerantes a los 7 y 15 d de sembrados, calculándose la viabilidad (%) una vez transcurridos los 30 d.

Los medios de cultivo estudiados fueron el MURASHIGE-SKOOG modificado<sup>5</sup> utilizado como medio de propagación para todas las variedades de la caña de azúcar y este mismo medio, suplementado con 1 g/L de hidrolizado de caseína.

Ambos fueron aplicados en estado sólido (agar 0,6 %) y líquido, utilizando puentes de papel de filtro para el cultivo en forma líquida.

El procesamiento estadístico de los resultados se realizó mediante un análisis factorial.

El la Tabla I se muestra la forma en que fueron ejecutados los experimentos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El crecimiento logrado de los meristemos en los diferentes medios de cultivo se muestran en la Tabla II.

Se obtuvieron diferencias significativas entre las tres variables estudiadas de acuerdo con el al crecimiento alcanzado por los meristemos a los 15 d de cultivados. La mejor variante en todos los casos resultó el medio de propagación en estado sólido.

La CUBA 8751 por ser una variedad fácilmente adaptable al cultivo de tejidos, su comportamiento frente a los medios estudiados fue mejor que el de la JARONU 60-5 en todos los casos. No obstante, el simple hecho de modificar el estado de los medios (sólido a líquido) influyó significativamente en la viabilidad de sus meristemos a los 30 d. En cambio, para la JARONU 60-5, los medios líquidos garantizaron un nivel de sobrevivencia más estable.

Esto se debe a que la difusión de los nutrientes hacia el tejido es más rápida en los medios líquidos y por tanto puede facilitar el establecimiento de aquellas variedades que tienen un comportamiento recalcitrante.

En el caso de la caña de azúcar, es característico una gran segregación de fenoles por parte del tejido hacia el medio, lo que se acentúa por el daño introducido al explante.

En los medios líquidos, la fenolización es intensa debido a que los fenoles se difunden con mayor facilidad, aumentando por tanto, la posibilidad del autoenvenenamiento del tejido en etapas tempranas.

Por esta razón, en todos los casos en que se aplicó la mejor variante de medio, en estado sólido, se observó, que tanto el alargamiento como la regeneración de los meristemos a los 30 d fueron superiores.

**TABLA I**  
**Forma de ejecución de los experimentos**

Variante N	Variedad		Medio		Estado	
	CUBA 8751	JARONU 60-5	MP	MP + HC	Sólido	Líquido
1	X	-	X	-	X	-
2	X	-	X	-	-	X
3	X	-	-	X	X	-
4	X	-	-	X	-	X
5	-	X	X	-	X	-
6	-	X	X	-	-	X
7	-	X	-	X	X	-
9	-	X	-	X	-	X

MP medio de propagación; MP + HC medio de propagación suplementado con hidrolizado de caseína

**TABLA II**  
**Resultados experimentales**

Variante	N	Longitud del regenerante X ( $\mu\text{m}$ )		Viabilidad (%)
1	10	13 500	A	90
2	10	2 400	B	40
3	10	10 400	C	90
4	10	2 800	B	20
5	10	6 900	D	50
6	10	3 500	E	60
7	10	2 000	B	10
8	10	3 100	E	50

N cantidad de muestras

Longitud del regenerante valores medios del crecimiento de los meristemos alcanzado a los 15 d

Letras diferentes implican diferencias significativas ( $\alpha < 0,05$ )

## CONCLUSIONES

El medio de propagación solidificado con agar al 0,6 %, resultó el más favorable para la regeneración de meristemos correspondientes a las variedades CUBA 8751 y JARONU 60-5, respectivamente, con una longitud inicial de  $1\ 000\ \mu\text{m} \pm 500\ \mu\text{m}$ .

No es recomendable el cultivo en medio líquido, debido a que en él la difusión de los fenoles segregados por el tejido es mayor, lo que provoca el autoenvenenamiento y muerte de las células en una etapa temprana del crecimiento

## BIBLIOGRAFIA

1. Kartha K. Plant Tissue Culture, 181-182. Ed. Academic Press Inc., USA, 1981.
2. Dodds J. y Dodds T. *Ciencia y Desarrollo*, 51, 188, 1983.
3. Wang P. J. and Hu C.Y. *Advances in Biochemical Engineering*, 67-70, Ed. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1980.
4. Henshaw G.G. and O'hara J.F. *Plant Biotechnology*, 226-227. Ed. S.H. Mantell and H. Smith, U.S.A., 1983.
5. Korneva S. y Maribona R. Solicitud de patente: PRI 96-88

Se edita cuatrimestralmente en idioma español, con un resumen en inglés.

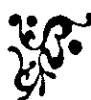
Los objetivos de esta publicación científica son los de propiciar la divulgación de los avances en este campo que incluyen temas directamente relacionados con producción, purificación y aplicación de los interferones, Ingeniería Genética, producción de anticuerpos monoclonales, inmunología, química y bioquímica de ADN y de proteínas, producción y caracterización de biomoléculas, fermentaciones, producción de vacunas y nuevos métodos de diagnósticos, así como el intercambio entre los investigadores de distintos países, por lo que la revista tiene un carácter internacional.

Asimismo, se incluyen otras selecciones como cartas al editor, preguntas, comentarios sobre actividades y eventos científicos importantes.

El costo anual de esta revista es el equivalente a US\$ 15,00 cuyo pago se realiza mediante transferencia bancaria. Sociedad Iberoamericana para Investigación sobre Interferón. Cuenta Bancaria 1-247-5680, Banco Nacional de Cuba, La Habana Cuba pudiendo realizarse este pago en cualquier moneda libremente convertible, excepto en US dólares.

Para las suscripciones nacionales realizarse el pago de \$15,00 mediante giro postal a:

**Revista Interferón y Biotecnología,**  
**6072, Habana, Cuba**



# REVISTA INTERFERON

Y

# BIOTECNOLOGIA

