

# ESTABILIDAD VARIETAL DE LA CAÑA DE AZÚCAR PROCEDENTE DE MERISTEMOS CRIOCONSERVADOS

R. Ortiz, C. de la Fé, María T. González y A. Rodríguez

**ABSTRACT.** This investigation was carried out with the aim of evaluating the varietal stability of sugarcane plantlets from cryopreserved meristems, using noncryopreserved apices as control. All the material grown in the laboratory was transferred to propagative beds to obtain enough crop material for its further reproduction. Then, this material was planted in the field under an experimental design to evaluate individually and in populations those seedlings derived from cryopreserved apical meristems. Cane and sugar yield components were evaluated, besides botanically characterizing each individual, with the aim of evaluating if cryopreservation can be used for sugarcane germplasm preservation. According to results, no changes were recorded in cryopreserved plants regarding botanical characters nor every yield component evaluated.

**RESUMEN.** Con el objetivo de evaluar la estabilidad varietal de la caña de azúcar procedente de meristemos crioconservados, se ejecutó este trabajo. Se utilizaron vitroplantas de dos variedades de caña de azúcar regeneradas a partir de meristemos apicales crioconservados y no crioconservados como control. Todo el material después de su crecimiento a nivel de laboratorio se llevó a canteros multiplicadores, para lograr suficiente material vegetal para su reproducción. Posteriormente, dicho material se plantó en el campo bajo un diseño experimental para evaluar en forma individual y poblacional las plantas procedentes de meristemos apicales crioconservados. Se evaluaron los componentes del rendimiento agrícola y azucarero, así como se realizó la caracterización botánica de cada individuo, con el fin de evaluar si la crioconservación puede utilizarse para la conservación del germoplasma en este cultivo. Los resultados demostraron que no se presentaron cambios en las plantas crioconservadas en cuanto a caracteres botánicos ni en los componentes del rendimiento evaluados.

*Key words:* sugarcane, meristems, cryopreservation

*Palabras clave:* caña de azúcar, meristemas, crioconservación

## INTRODUCCIÓN

Los métodos para la conservación del germoplasma se adecuan a las características de cada especie y a su sistema de propagación. Existen especies para las que el almacenamiento por semilla botánica ortodoxa es suficiente y muy económico (1).

Existen otras con semillas recalcitrantes que pierden rápido su viabilidad, según los tratamientos que se les realicen y otras especies que no poseen la posibilidad por medio de la semilla botánica de conservar su tipo; esos casos se dan en alta medida en muchas plantas tropicales (2)(3).

En la actualidad, la crioconservación -almacenamiento en nitrógeno líquido- constituye una alternativa para mantener segura, a largo plazo y en un pequeño espacio, una gran cantidad de tipos.

La crioconservación a diferencia de otros métodos, implica entre otras modificaciones, el cese total de las funciones metabólicas durante el tiempo de almacenamiento (4)(5).

Este método de almacenamiento debe mantener la estabilidad del material genético, pero por ser primera vez que se crioconservan meristemos apicales de caña de azúcar en el mundo, se hizo necesaria dicha comprobación, que es el objetivo de este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de meristemos apicales crioconservados de las variedades de caña de azúcar C 8751 y B 34104, según la tecnología desarrollada por González (6), se descongelaron al aire del flujo laminar los explantes de dichos ápices y junto a ápices no crioconservados se regeneraron nuevas plántulas. El material después de su crecimiento a nivel *in vitro* pasó a canteros multiplicadores, para lograr suficiente material vegetativo para su reproducción.

A los siete meses se cosecharon las plántulas y cada una se plantó por medio de dos estacas de tres yemas en un bloque por variedad, intercalando las plantas procedentes de meristemos apicales crioconservados

Dr.C. R. Ortiz, Investigador Titular; Dr.C. C. de la Fé, Investigador Auxiliar del Departamento de Genética y Mejoramiento; A. Rodríguez, Ingeniero Agrónomo de la Dirección de Investigaciones, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana; Dra. María T. González, Investigador Titular de la Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

con las no crioconservadas (Tabla I), a una distancia entre plantas de 1 m y entre calles de 1.5 m.

**Tabla I. Cantidad y tipos de plántulas en el ensayo**

| Tratamientos              | Variedades |        |
|---------------------------|------------|--------|
|                           | B 34104    | C 8751 |
| Ápices crioconservados    | 44         | 45     |
| Ápices no crioconservados | 30         | 31     |
| Total                     | 74         | 76     |

Con el objetivo de evaluar en forma individual y poblacional las plantas procedentes de meristemos crioconservados y no crioconservados, se evaluaron diversos componentes agrícolas:

- ⇒ A los 45 días:
  - brotación: se evaluaron las yemas que brotaron y se estimó en cada caso el porcentaje de germinación.
- ⇒ A los 10 meses:
  - número de tallos/plantón
  - altura de los tallos (en cm, a tres tallos/plántula)
  - diámetro medio de los tallos (en mm, a tres tallos/plántula con un pie de rey)
  - número de hojas activas por plántula (media de tres tallos/plántula).
- ⇒ A los 14 meses (cosecha):
  - peso de los tallos (en kg, a tres tallos/plántula)
  - brix medio del tallo (en la parte central de tres tallos/plántula).

Además, se realizó una caracterización botánica de todos los individuos regenerados a partir de meristemos apicales crioconservados o no (ocho meses), tomándose un tallo por cada individuo. Según el patrón de cada variedad, se evaluaron los siguientes aspectos:

- ★ color del tallo
- ★ forma del entrenudo
- ★ rajaduras de crecimiento
- ★ forma de la yema
- ★ tipo de aurícula
- ★ tipo de cuello
- ★ tipo de lígula.

Se usaron las claves botánicas internacionales recomendadas por la ISSCT y los patrones descritos para las dos variedades (7)(8).

Los componentes agrícolas se evaluaron estadísticamente de forma univariada y multivariada. Se aplicó una prueba de diferencias entre medias en poblaciones con distinto número de individuos, para detectar posibles diferencias entre crioconservados y no crioconservados dentro de una misma variedad.

Se aplicó un índice de variación:

$$I = \text{CRIO/NO CRIO} \times 100$$

donde:

CRIO = Valor medio de los crioconservados y

NO CRIO = Valor medio de los no crioconservados.

Para la caracterización del posible agrupamiento de los individuos, se aplicó un análisis factorial discriminante, teniendo todos los caracteres agrícolas y utilizando la distancia de Mahalanobis (9)(10).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al comparar los individuos procedentes de meristemos crioconservados o no, en las dos variedades evaluadas separadamente (B 34104 y C 8751) (Tabla II), se encontró que ninguna de las variables evaluadas presentaron diferencias significativas entre los procedentes de meristemos crioconservados y no crioconservados. Los valores medio encontrados en cada variedad están en correspondencia con los rangos de los patrones morfológicos de ambas variedades y las pequeñas diferencias están en correspondencia con los rangos normales en que se mueven esas variables.

**Tabla II. Comparación entre individuos procedentes de meristemos crioconservados y no crioconservados. Medias de las variables estudiadas**

| Variable                 | B 34104        |        | Sign. | ESx   | C 8751         |        | Sign. | ESx   |
|--------------------------|----------------|--------|-------|-------|----------------|--------|-------|-------|
|                          | Crioconservado |        |       |       | Crioconservado |        |       |       |
|                          | Si             | No     |       |       | Si             | No     |       |       |
| Brotación (%)            | 51.00          | 49.00  | ns    | 1.27  | 54.00          | 56.00  | ns    | 1.23  |
| Número de tallos         | 11.47          | 12.82  | ns    | 0.98  | 14.01          | 15.60  | ns    | 1.21  |
| Diámetro(mm)             | 29.70          | 31.30  | ns    | 0.75  | 37.30          | 38.40  | ns    | 0.79  |
| Altura (cm)              | 256.00         | 277.00 | ns    | 20.08 | 267.00         | 266.00 | ns    | 17.25 |
| Número hojas activas     | 10.20          | 9.70   | ns    | 0.48  | 9.70           | 9.60   | ns    | 0.51  |
| Peso del tallo(kg)       | 1.51           | 1.57   | ns    | 0.10  | 1.45           | 1.55   | ns    | 0.12  |
| Brix medio del tallo (%) | 20.60          | 20.50  | ns    | 0.38  | 21.80          | 21.50  | ns    | 0.41  |

Se observa en el índice de variación (Tabla III), que en general ninguna variable fue afectada en magnitud significativa. El número de tallos presentó alguna depresión en ambas variedades; se conoce que esta variable está muy afectada por el ambiente y posee baja heredabilidad, lo que puede en parte explicar este comportamiento.

**Tabla III. Resultados de los índices de variación estimados entre las plantas crioconservadas y no crioconservadas**

| Variables               | B34104 (I) | C 8751 (I) |
|-------------------------|------------|------------|
| Brotación               | 104        | 96         |
| Número de tallos        | 89         | 90         |
| Diámetro                | 105        | 97         |
| Altura                  | 92         | 100        |
| Número de hojas activas | 98         | 101        |
| Peso del tallo          | 96         | 94         |
| Brix medio del tallo    | 100        | 101        |

Al evaluar las características botánicas en cada individuo crioconservado, con el objetivo de ver si estos seguían el patrón de la variedad en cuestión, se observó que el color del tallo y la forma del entrenudo se mantuvieron en todos los individuos y las rajaduras típicas de los tallos se expresaron en la mayoría de los individuos. En cuanto a los importantes caracteres botánicos de forma y tipo de yema, aurícula, cuello y lígula, no variaron según el tipo de variedad para ninguno de los individuos crioconservados.

En la Tabla IV se presentan los resultados del análisis factorial discriminante, teniendo en cuenta todas las variables agrícolas evaluadas. Se denota que el análisis no reconoció la creación de dos grupos, siendo los porcentajes de bien clasificados extremadamente bajos, todo lo cual corrobora los anteriores resultados, en cuanto a que no existen cambios botánicos ni morfológicos y tampoco productivos por el efecto de la crioconservación.

Algunos autores (11) al realizar análisis isoenzimáticos a ápices crioconservados, no detectaron diferencias en bandas isoenzimáticas; sin embargo, se ha encontrado (16) una identidad isoenzimática del 95 % en dos variedades de caña de azúcar, después de pasar entre cuatro y 12 meses de estar almacenados en nitrógeno líquido. Por otra parte, en banano (12)(13) y en boniato (14)(15), se informa la estabilidad del material crioconservado por un período de tiempo largo, todo lo cual coincide con estos resultados.

**Tabla IV. Resultados del análisis factorial discriminante con las variables agrícolas de los individuos crioconservados frente a los no crioconservados**

| Tabla de pertenencia<br>Variedad C 8751 |    |    | Tabla de pertenencia<br>Variedad B 34104 |    |    |
|---|----|----|--|----|----|
| Grupo                                   | I  | II | Grupo                                    | I  | II |
| I                                       | 43 | 28 | I  | 40 | 22 |
| II                                      | 2  | 3  | II                                       | 4  | 8  |
| En línea: Grupo de pertenencia          |    |    | En columna: Grupo de ubicación           |    |    |
| Porcentaje de bien clasificado<br>60.5  |    |    | Porcentaje de bien clasificado<br>64.9   |    |    |

## REFERENCIAS

- Vossen, H. A. Van Der. Methods of preserving the viability of coffee seed in storage. *Seed Science and Technology*, 1979, vol. 7, p. 65-74.
- Engelmann, F. Le developement actuel de la cryoconservation des embryos somatiques de palmier a huile. En Proc.XVIII Cong. Intd. Du Friod, Montreal, 10-17 Aout 1991, p. 305-308.
- Engelmann, F. y Assay-Bah, B. Maintenance of coconut genetic resources *in vitro* techniques for medium and long-term conservation. En Proc. Intl. Workshop on coconut genetic resources, Cinapas, Indonecia 8-10 Oct, 1991.
- Martínez, M., et al. Estudios preliminares sobre la crioconservación de callos embriogénicos y semillas botánicas de *Coffea arabica* var. 9722. *Cultivos Tropicales*, 1995, vol. 16, no. 3, p. 74-76.
- Martínez, M. et al. Estudios preliminares sobre la crioconservación de embriones cigóticos de *Coffea arabica* var. 9722. *Cultivos Tropicales*, vol. 17, no. 1, p. 79-81, 1996.
- González, M. T. Desarrollo de una tecnología para la crioconservación de meristemas apicales de caña de azúcar. [Tesis de Doctor en Ciencias Técnicas]. La Habana : CENIC, 1997.
- Pérez G., et al. Recursos genéticos de la caña de azúcar. *Publicaciones IMAGO*, 1997, p. 53-67.
- Bernal, N., et al. Variedades de caña de azúcar . Uso y su manejo. *Publicaciones IMAGO*, 1997.
- Linares, G., Acosta, L. y Sistach, V. Estadística Multivariada. La Habana : Universidad de La Habana, 319 p.
- Varela, M. Análisis multivariado de datos. Aplicación a las ciencias agrícolas. La Habana : INCA, 1998, 56 p.
- Paulet, F., Engelmann, F. y Glaszmann, J. C. Cryopreservation of apices of *in vitro* plantlets of sugarcane using encapsulation-dehydration. *Plant Cell Report*, 1993, vol. 12, p. 525-529.
- Mari, S., et al. Histo-cytological study of apices of coffee *in vitro* plantlets during their cryopreservation using the encapsulation dehydration technique. *Cryo-Letters*, 1995, vol. 16, p. 289-299.
- Panis, B. Cryopreservatie van bananen (Musa spp.) geneplasma. *Bulletin des Seances, Académie Royale des Sciences D'Outre- Mer.*, 1996, vol. 42, no. 3, p. 521-535.
- Bhatti, M. H., et al. Cryopreservation of embryogenic tissue of a range of genotypes of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) using an encapsulation protocol. *Plant Cell Reports*, 1997, vol. 16, no. 11, p. 802-804.
- Blakesley, D., et al. A simplified protocol for cryopreservation of embryogenic tissues of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) utilising sucrose preculture only. *Cryo-Letters*, 1997, vol. 18, no. 2, p. 77-80.

Recibido: 14 de julio de 1999

Aceptado: 24 de septiembre de 1999