

INNOVACIONES BIOTECNOLOGICAS PARA LA PRODUCCIÓN *IN VITRO* DE PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR

BIOTECHNOLOGY INNOVATIONS FOR *IN VITRO* PRODUCTION OF SUGAR CANE PLANTS

Bello-Bello Jericó Jabín¹, Gómez- Merino Fernando Carlos¹, Mendoza-Mexicano Maurilio^{2*} y Sumano López Dante²

¹Colegio de postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba Veracruz, km 348. C.P. 94946, Amatlán de los Reyes, Veracruz.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo experimental Cotaxtla, Veracruz y Huimanguillo, Tabasco.

*Autor para correspondencia E-mail: mmmexicano@hotmail.com

RESUMEN

La propagación *in vitro* de plantas utilizando técnicas innovadoras de Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV) permite la optimización el proceso de micropropagación para la obtención de plántulas libres de patógenos (sanas), genéticamente homogéneas (clones) y vigorizadas (rejuvenecidas). El objetivo de este estudio fue utilizar tecnologías innovadoras para la micropropagación de plántulas de caña de azúcar. Las tecnologías consistieron en evaluar diferentes sistemas semiautomatizados de inmersión temporal, uso de nanopartículas de plata (NPsAg) agregadas al medio de cultivo MS (Murashige y Skoog) e implementación de iluminación LED en sustitución de lámparas fluorescentes. Los resultados demuestran que diferentes sistemas de inmersión temporal pueden ser utilizados en la micropropagación de caña, siendo el Biorreactor de Inmersión por Gravedad una opción viable para la micropropagación a escala comercial de caña de azúcar. Por otro lado, las NPsAg pueden ser utilizadas para reducir los porcentajes de contaminación y aumentar el coeficiente de multiplicación. Finalmente, la iluminación LED puede sustituir el uso de lámparas fluorescentes como una alternativa eficiente de ahorro de energía. En conclusión, el uso de innovaciones biotecnológicas para la producción *in vitro* de plantas de caña de azúcar permites optimizar el proceso de producción comercial de plantas *in vitro*.

Palabras clave: Biorreactores, nanopartículas de plata, iluminación LED.

Key words: Bioreactors, Silver nanoparticles, LED lighting.

INTRODUCCIÓN

En México, la mayor parte de las variedades comerciales de caña de azúcar se propagan por métodos convencionales mediante la siembra de yemas; sin embargo, esta técnica no garantiza el saneamiento y rejuvenecimiento de las variedades seleccionadas en campo. Esto provoca pérdidas de la capacidad de regeneración, que se ve reflejado en los bajos rendimientos en campo. De acuerdo a Flores (2001), las variedades de caña se deterioran con el transcurso de los años, perdiendo su poder productivo, el cual pueden llegar a deteriorarse y finalmente desaparecer del cultivo comercial.

Una de las alternativas más utilizada para el saneamiento y rejuvenecimiento de esta especie es mediante el uso de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales (CTV). El CTV es una rama de la biotecnología que consiste en un conjunto de técnicas que permiten el establecimiento, mantenimiento y manipulación de cualquier parte de una planta, desde una célula hasta un organismo completo, bajo condiciones artificiales, asépticas y controladas. Una de las aplicaciones del CTV es la micropropagación o clonación *in vitro* de plantas, que consiste en la obtención masiva de material vegetal rejuvenecido con alta calidad genética y fitosanitaria bajo condiciones asépticas y controladas.

Con los avances biotecnológicos se han desarrollado nuevas metodologías para la propagación masiva de plantas *in vitro*, una de ellas son los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT), los cuales han demostrado ser una herramienta eficaz para la micropropagación de diferentes especies vegetales de importancia económica. Los SIT permiten la automatización en algunas etapas del cultivo *in vitro*, reduciendo la mano de obra, facilitando el escalado e incrementando la eficiencia biológica y productividad en campo de las especies propagadas (Lorenzo et al., 1998; Martre et al., 2001). Por otro lado, el uso de la nanobiotecnología, mediante la aplicación de nanopartículas de plata (NPsAg) agregadas al medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) permite la reducción de los índices de contaminación y favorece el desarrollo *in vitro*. Además, el empleo de LEDs (del acrónimo inglés LED, light-emitting diode: 'diodo emisor de luz'), son una alternativa en el ahorro de energía durante la micropropagación de plantas. El objetivo de este trabajo fue innovar sistemas biotecnológicos para la producción *in vitro* de plantas de caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistemas de Inmersión Temporal (SIT)

Se evaluaron diferentes sistemas SIT: Biorreactor de Inmersión Temporal (BIT), el Recipientes de Inmersión Temporal Automatizados (RITA) y el Biorreactor de Inmersión por Gravedad (BIG).

Se emplearon brotes de 2 cm como explantes de la variedad MEX 69-290 previamente establecidos *in vitro*. Para la multiplicación de los brotes se utilizó 250 ml de medio de cultivo líquido MS suplementado con 4.65 μM de cinetina + 3.7 μM de ácido indolacético + 1.3 μM de benciladenina + 3% de sacarosa (p/v). El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.8 y fueron esterilizados en frascos de vidrio de 500 ml en autoclave a 1.5 Kg cm^{-2} de presión y 121 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. Se agregaron 50 ml de medio de cultivo por explante y fueron incubados a 25 ± 2 $^{\circ}\text{C}$, bajo un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad a una irradiancia de 40-50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El tiempo y frecuencia de inmersión fueron de 2 minutos cada 8 horas.

Utilización de Nanopartículas de plata (NPsAg)

Se adicionaron diferentes concentraciones de AgNPs (0, 25, 50, 100 y 200 mg L^{-1}) al medio de cultivo líquido en BITs. Se colocaron por Biorreactor 10 explantes cada uno con 2-3 brotes y se realizaron tres repeticiones por tratamiento en tres replicas. El medio de cultivo se dosificó en los BIT a razón de 500 mL y se utilizó una frecuencia de inmersión de dos minutos cada 8 horas. Se analizaron las variables de multiplicación de los explantes a los 30 días de cultivo.

Empleo de LEDs

Se colocaron varios sistemas de iluminación LED blanco, rojo, azul, rojo-azul y uno con luz fluorescente. La distancia entre cada tratamiento es de 40 cm. Entre cada sistema de iluminación se colocaron dos tiras LED.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sistemas de Inmersión Temporal: Al evaluar diferentes SIT en caña de azúcar durante su propagación *in vitro*, no se observaron diferencias estadísticas significativas para el número de brotes por explante; sin embargo, la longitud de los brotes difirió significativamente entre los sistemas de inmersión evaluados.

La micropropagación a escala comercial de la mayoría de los cultivos de importancia económica como la caña de azúcar está casi siempre limitada por los altos costos de producción que la tecnología requiere. La semi-automatización de la micropropagación por lo tanto, juega un papel fundamental y la integración de los SIT ofrece una alternativa práctica para reducirlos (Mordocco y otros, 2009). Los SIT evaluados en este trabajo mostraron un buen desempeño en la formación de nuevos brotes si se comparan con la micropropagación convencional de caña de azúcar en medio semisólido obtenidos en otros estudios.

Nanopartículas de plata (NPsAg): Al evaluar las NPsAg durante el cultivo *in vitro* de caña de azúcar se encontró que la concentración de 50 ml L⁻¹ favoreció el número de brotes por explantes. Este comportamiento también es conocido como efecto hermético. Además, las NPsAg, son utilizadas como microbicida para prevenir la contaminación de los cultivos *in vitro*.

Empleo de LEDs: Se observó un efecto positivo sobre el desarrollo *in vitro* en las combinaciones de LEDs rojo-azul, el cual podría sustituir la utilización de lámparas fluorescentes, permitiendo así el ahorro de consumo de energía.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio permitieron validar y desarrollar innovaciones biotecnológicas para la producción *in vitro* de plantas de caña de azúcar.

REFERENCIAS

- Flores S.C. (2001). Las variedades de Caña de Azúcar en México. pp. 226-228.
- Lorenzo J.C., Gonzalez B.L, Escalona M., Teisson C., Espinosa P., y Borroto C. (1998). Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion temporary immersion system. *Plant Cell Tiss Org Cult.* 54:197-200.
- Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15: 473-497.
- Pérez P.J.N., Suárez C. M. y Orellana P.P. (2000). Posibilidades y potencial de la propagación masiva de plantas en Cuba. *Biotecnología Vegetal.* 1: 3-12.

Martre, P; Lacan, D; Just, D; Teisson, C (2001). Physiological effects of temporary immersion on *Hevea brasiliensis* callus. *Plant Cell Tiss Org Cult.* 67, 25-35.