
RESPUESTAS DE CRECIMIENTO DEL CULTIVO DE TEJIDOS DEL MERISTEMO RADICULAR DE *Zea mays* A DIVERSAS SUSTANCIAS QUÍMICAS

MA. TERESA CRUZ DE PALACIOS

Departamento de Radiobiología.
Instituto Nacional de Energía Nuclear.

INTRODUCCIÓN

Antes de la última década los trabajos sobre cultivos de tejidos vegetales, se centraron principalmente hacia las dicotiledóneas razón por la cual se encuentra una avanzada literatura y una variedad de temas en este campo, por ejemplo en los tumores que forma el *Agrobacterium tumefaciens* "Crowngall" se conocen los metabolismos de la arginina (Menage, 1964) en *Daucus carota*, los tratamientos que restaura el curso de la absorción (Nakajima, 1967). En los últimos años, se ha incrementado considerablemente el cultivo de tejidos en monocotiledóneas, principalmente en el Japón y la India en donde se han dedicado al cultivo de diversos cereales y en los últimos diez años, se han logrado establecer *callus* con distintas partes de la planta. En 1963. Takuza Yamada obtuvo *callus* con diversas partes de las flores de *Tradescantia*, *Lilium* y *Crinum*; en 1965 Mascarenhas y colaboradores, indujeron *callus* de raíz de *Zea mays* en 1967 por otra parte en este laboratorio, se logra establecer este mismo cultivo. En 1954 Straus y La Rue obtienen *callus* de endospermo de esta gramínea, Graebe y Novelli en este mismo año, establecen un método práctico para obtener cultivos a gran escala y estudian la incorporación de los aminoácidos en células libres, observan que aún proveniente de células diferenciadas su comportamiento es muy similar al de las bacterias; estos estudios se realizaron también en endospermo de maíz. En 1967 Yamada y Carter logran cultivar *Oriza sativa*. En 1968 Niizeki determina el desarrollo de plantas provenientes de cultivo de antera de avena. Mascarenhas, cultiva trigo, sorgo y avena, en este laboratorio, Ortega induce *callus* a partir de plántulas de *Dioscorea composita*. Estos autores usan diversos medios, auxinas, citokininas y kinetinas, modifican los medios, y las demás sustancias las combinan a diferentes concentraciones. En el presente estudio, se utiliza medio de White, se modifican los factores reguladores del crecimiento, así como la fuente de hierro.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material y los métodos se han publicado con anterioridad (An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México, 39, Ser. Biol. Exp., (1) 1-26: 1968. Los cambios que se efectuaron consisten en:

- 1.—Sulfato de Fe por citrado.
- 2.—Ausencia del extracto de levadura (EL) en algunos medios.
- 3.—Adición de difenil-urea (DPU) en ciertos casos.
- 4.—Pruebas con licor de maíz macerado (LMM). *

RESULTADOS

De los experimentos de Mascarenhas se concluye que si se modifica el medio cambiando la fuente de hierro, añadiendo DPU, LMM, edamina y leche de coco se logra un *callus* en condiciones óptimas en cuanto a proliferación celular. En nuestros experimentos, las pruebas efectuadas con LMM revelaron la presencia de un tono café en el *callus* y en el medio lo que reveló la oxidación y por lo tanto, la muerte del mismo. Con base en esto, no se efectuaron más pruebas al respecto. El cambio de la fuente de hierro no reportó ventajas significativas como se demuestra en la tabla 1; * las respuestas de los cultivos están de acuerdo con la auxina que se les ha adicionado sin intervenir el elemento férrico. Se observa que en los medios 2 y 6 con EL y DPU se formaron raíces laterales (Figures 1 y 2) y no *callus* como demostró Mascarenhas en sus experimentos. Los medios 3 y 5 suplementados con EL 2, 4-D y DPU formaron *callus* (Fig. 3). El medio número 7 que contiene DPU, y 2, 4-D también formó *callus* aunque de menor tamaño que el de los medios anteriores (Fig. 4). Los medios 4, 8 y 9 carentes del EL no

presentaron síntomas de crecimiento (Fig. 5 y 6). Estos resultados se tomaron a los 20 y 120 días después del primer trasplante.

* El licor de maíz macerado, fue proporcionado gentilmente por The Anil Starch Products Ltd. Ahmeadabad, India.

| | SF | CF | EL | 2,4-D | DPU | AIA | Efecto observado |
|----|----|----|----|-------|-----|-----|------------------|
| 1* | X | | | | | X | |
| 2 | | X | X | | X | | Forma raíces |
| 3 | | X | X | X | X | | Forma callus |
| 4 | | X | | | X | | No crece |
| 5 | X | | X | X | X | | Forma callus |
| 6 | X | | X | | X | | Forma raíces |
| 7 | X | | | X | X | | Forma callus |
| 8 | X | | | | X | | No crece |
| 9 | X | | | X | | | No crece |

Tabla 1. Sustancias que modifican el medio de White.

SF: sulfato férrico 0.0025 g/l

CF: citrato férrico 0.0025 g/l

EL: extracto de levadura 1.0g/l

2,4-D: ácido diclorofenoxiacético 10^{-5} N

DPU: difenil urea 1.0 g/l

AIA: ácido indol acético 0.003 g/l

* Medio en que se colocaron las raíces antes del experimento.

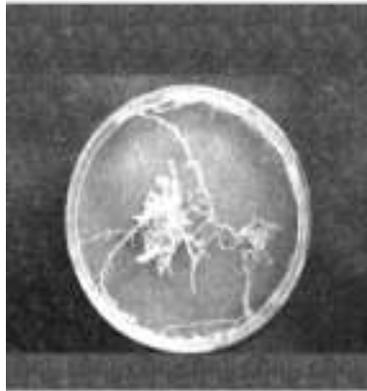
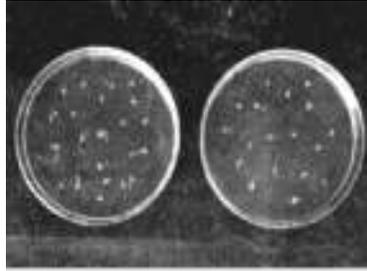


Fig. 1: Medio 2 y 3, a los 20 días.

Fig. 2: Medio 6. Transplante de 120 días. forma raíces.

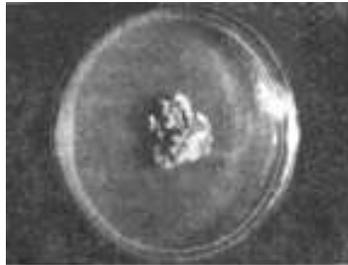


Fig. 3: Medio 3 a los 120 días. Forma "callus".



Fig. 4: Medio 7 a los 120 días. Forma "callus" menor.

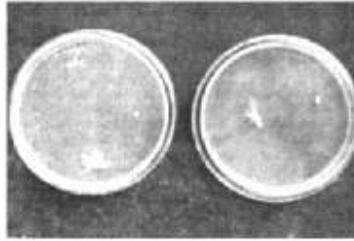


Fig. 5: Medio 4 y 8 a los 120 días. No crece.

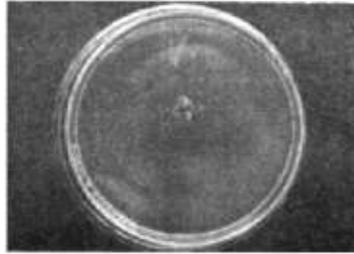


Fig. 6: Medio 9 a los 120 días. No crece.

DISCUSIÓN

La morfogénesis es la respuesta del sistema de crecimiento a ciertos controles internos en los cuales intervienen diferentes sustancias químicas reguladoras del mismo. Sus efectos se perciben en el alargamiento celular y en la división. Esto sugiere áreas de respuestas en las cuales es importante imaginar a las células como un sistema organizado capaz de intercambiar funciones, como síntesis de proteínas, y sustancias tales como sales, agua, etc.

Todas las células de una planta reciben la misma información genética, una célula diferenciada sólo usa parte de esa información (Steward 1961). Al separarla del sitio que ocupa en el órgano, presenta una variedad de respuestas morfogenéticas que sugieren la presencia de estímulos exógenos, los cuales evocan ciertas capacidades de crecimiento y desarrollo, latentes en la célula. Cuando se estimulan las células de *Daucus carota* con leche de coco y se separan de sus células vecinas producen esta misma variedad de respuestas (Steward, Mapes, Smith 1958). Como el estímulo que se les aplica para crecer es excesivo y externo a ellas, se ven obligadas a expresar sus capacidades intrínsecas. Por contraste cuando las mismas células son parte de un todo organizado, las limitaciones de su comportamiento, se imponen por su posición en el mismo y están confinadas a un patrón rígido de crecimiento. Un explante de *D. carota* libre de cambium crece como una célula en proliferación y virtualmente nunca se organiza, por su parte las células libres producen también una gran variedad de respuestas que dan lugar a toda una planta, o simplemente raíces y yemas o brotes. En pocas palabras una célula después de pasar por distintos medios de cultivo, todavía contiene el código genético necesario para crear una nueva planta. Los nutrientes que provocan estas respuestas de crecimiento son justamente aquéllos que normalmente nutren al embrión inmaduro, de ahí que una determinada célula tenga su naturaleza prefijada por su constitución genética, aún cuando los nutrientes sigan siendo un factor importante en el crecimiento y desarrollo de la misma.

Si en el presente experimento, se comparan los medios 2 y 6 con los medios 4, 8 y 9 se aprecia la acción sinérgica del EL con el 2, 4-D y el DPU puesto que los medios carentes de levadura no presentan crecimiento, excepto el número 7 en el que interactúan las dos auxinas; con ello se corroboran por una parte los estudios de Torrey y Shigemura (1957) sobre el empleo del extracto de levadura en raíces de *Pisum sativum*, y por la otra los experimentos de Steward y Caplin (1951) con leche de coco en tubérculos de *Solanum tuberosum*. Es probable por lo tanto que los principios estimulantes que contiene la leche de coco sean análogos a los que se encuentran en el extracto de levadura. Al experimentar con DPU y 2, 4-D se tuvo la oportunidad de observar la influencia del medio sobre las células, ahora bien, si se comparan los resultados de los medios 2 y 6, con los obtenidos en los medios 3

y 5 se observa que el DPU y el EL presentan las características necesarias para provocar la respuesta de las capacidades intrínsecas de la célula al manifestar su mensaje genético y formar raíces en un medio donde no existen limitaciones de posición, ni están confinadas a un patrón rígido de crecimiento. Por el contrario, se supone que el 2, 4-D provoca la liberación de sustancias de crecimiento dentro de la célula lo que ocasiona que éste sea desorganizado, y forza a las células a conservar sus características de células indiferenciadas. Las auxinas se han dividido en tres grupos: débiles, fuertes y de actividad media; el 2, 4-D se encuentra entre las de actividad fuerte. En los medios 3, 5 y 7 se presenta un fenómeno de interacción competitiva entre el 2, 4-D y el DPU y se comprueba que la acción del 2, 4-D es más fuerte que la del DPU puesto que la respuesta celular no es rizogénica, sino anárquica en presencia de levadura, esta respuesta corresponde a las reacciones que presentan las células cultivadas en los medios que contienen dicha auxina. Se supone que la formación de *callus* en el medio número 7 se debe a la acción conjunta del DPU y del 2, 4-D, sin embargo el crecimiento en este medio no es tan activo como en los que se ha adicionado levadura.

RESUMEN

Se estudiaron las respuestas en el crecimiento que presenta el cultivo de tejidos del meristemo radicular de *Zea mays*, al cambiar la fuente de hierro (citrato en lugar de sulfato), aumentar difenil urea, suprimir en algunos casos el extracto de levadura; así como las alteraciones que presenta el cultivo en un medio en donde interacciona el 2, 4-D con el (DPU). También se probó la acción del "Licor de Maíz Macerado" (Corn Steep licuor). Con el cambio de los elementos férricos, no se observaron respuestas significativas, el DPU ocasionó rizogénesis. Se corroboró la acción sinérgica del extracto de levadura, con el 2, 4-D y el DPU: asimismo se comprobó que la acción del 2, 4-D es más fuerte que la del DPU, al formar *callus*. El licor de maíz macerado ocasionó la oxidación del cultivo impidiendo su crecimiento.

On a étudié les alterations macroscopiques produites dans une culture de tissu meristematiques radiculaires de *Zea mays* quand on change la source de fer (citrates au lieu de stulfate), augmente le DPU dans la composition du milieu, et ajoute ou enleve au milieu de l'extrait de levures; on a aussi observé la reponse dans un milieu ou 2, 4-D et DPU interagissent et l'effet d'liqueur da maiz macecree. Le citrate de fer ne montrapas aucun effect. Le DPU cause rhizogenese. On observa une action synergistique parmi l'extrait de levures, 2, 4-D etait plus puissant que le DPU pour former le *callus*. Ceci etant dejá reporté. La liqueur de maiz macerée fut totalment inactive.

BIBLIOGRAFÍA

- CARTER, O y Y. YAMADA, E. TAKAHASHI, 1967. Tissue culture of oats. *Nature*, 214 (5092): 1029-1030.
- CRUZ, M T., 1968. Estudio citológico del meristemo terminal de la raíz de *Zea mays*. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Auton. México* 39 Ser. Biol. Exp.,3 (1): 1-12.
- GRAEBE, J. E. y G. D. NOVELLI. 1966. A practical method for large scale plant tissue culture. *Ev. Call. Res.*, 41: 509-520.
- , 1966. Amino acid incorporation in a cell free system from submerged tissue culture of *Zea mays* L. *Ex. Cell. Res.*, 41 509-520.
- MASCARENHAS, A. F., R. R. HENDER, R. B SEETHARAMA Y V., JAGANNATHAN, 1968. Tissue culture of maize, wheat, jowar and rice. *Indian. Jour. of Exper. Biol.*, 7 (1): 65-67.
- NAKAJIMA, T. y T. YAMAGUCHI. 1967. On the embryogenesis observed in tissue culture of carrot *Daucus* L. *Bull. Univ. Osaka. Pref. Ser. B.*, Vol. 19.
- NIIZEKI, H. and K. CONO, 1968. Induction of haploid rice plant from anther culture. *Proc. Japan Acad.*, 44: 554-557.
- NISHI, T. Y., YAMADA y E. TAKAHASHI, 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature*, 219, 5153: 508-509.
- ORTEGA L. L, 1968, Cultivo de tejidos obtenidos a partir del tubérculo de *Dioscorea composita*. (Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM).

STEWART, F. C. 1961. Organization and integration: Plant cell growth and nutrition *Growth in Living Systems*. Basic Books Inc. New York, 453-489.

———, et CAPLIN, S M., 1951. A Tissue Culture from potato tuber: the synergistic action of 2, 4-D and coconut milk. *Science*, 113 518-520.

TRIONE, E. J., L. E. JONES y R. J. METZGER, 1968. In vitro culture of somatic wheat callus tissue. *Amer. J. Bot.*, 55 (5): 529-531.

YAMADA, T., 1963. Differentiation of roots and buds in flower tissue cultured *in vitro*. *La Kromosoma*, 55-56. 1858-1859).

———, T. SHOJI y Y. SINOTO. 1964. Cytological studies on cultured cells II Formation of *calli* and general behavior of their cells in the tissue culture of *Tradescantia paludosa*. *Bot. Mag. Tokyo*, 77: 436-446.

YAMADA, Y. K., TAKANA y E. TAKAHASHI, 1967. Callus induction in rice *Oryza sativa*. *Proc. Japan Acad.*, 43: 156-159.

YAMADA, Y. T. NISHI, T. YASUDA y E. TAKAHASHI, 1968. The sterile culture of rice cells, *Oryza sativa* and its application. *Advances in Germfree Research and Gnoto-biology* (Ed. M. Germ).