

Cultivos de *Erysimum scoparium* (Brassicaceae) en un medio sin hormonas

F. VALDES, J.F. PEREZ FRANCES & B.R. RODRIGUEZ

Departamento de Biología Vegetal.
Universidad de La Laguna. 38271 La Laguna. Islas Canarias.

(Aceptado el 20 de Marzo de 1986)

VALDES, F., J.F. PEREZ FRANCES & B.R. RODRIGUEZ. 1987. Callus cultures of *Erysimum scoparium* (Brassicaceae) on a free hormones medium. *Vieraea* 17: 3-6

ABSTRACT: Callus cultures of *Erysimum scoparium* from a year of age line were culture during 4 subcultures on a free hormones medium. These cultures mantained its growth during the experiment showing a phytohormone-autotrophy. The possibility that these cultures can be habituated is discussed.

Key words: Callus culture, habituated culture, phytohormone-autotrophy, *Erysimum scoparium*.

RESUMEN: Cultivos de callo de *Erysimum scoparium* procedentes de una línea de cultivo de un año de edad, fueron mantenidos durante cuatro replicajes en un medio carente de hormonas. El crecimiento de los cultivos se mantuvo durante la experiencia exhibiendo una para hormonas vegetales. Se discute la posibilidad de que estos cultivos sean cultivos habituados.

Palabras clave: Cultivo de callo, cultivo habituado, autotrofia para fitohormonas, *Erysimum scoparium*.

INTRODUCCION

La iniciación y posterior mantenimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro requiere normalmente la inclusión de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo. Es frecuente que la presencia de fitohormonas naturales del tipo de las auxinas o de sustancias con actividad auxínica, sea decisiva para el establecimiento de los cultivos. En otros casos, la adición de citoquininas puede mejorar el efecto de las auxinas o, ser incluso imprescindible para la supervivencia de las células.

Una excepción notable la constituye la autotrofia para hormonas que exhiben los tejidos tumorales que pueden proliferar en un medio carente de este tipo de sustancias. Sin embargo, en ciertas ocasiones, los cultivos de tejidos pueden perder gradualmente sus necesidades de hormonas exógenas pudiendo llegar a crecer en un medio carente de ellas a semejanza de los tejidos tumorales (BENNICI, 1983). Se dice entonces que los cultivos están "habituados". GAUTHERET (1955) fue el pri-

mero en proponer que el fenómeno de la habituación podría ser una transformación de tipo epigenético. Esto fue puesto de manifiesto por LUTZ (1971) al lograr la regeneración de plantas a partir de células aisladas de cultivos habituados.

En nuestro laboratorio hemos estudiado la inducción y crecimiento de cultivos de callo de Erysimum scoparium (Brouss. ex Willd.) Wettst. a partir de diferentes tipos de explantos (PEREZ FRANCES et al., 1982; 1985). Estos cultivos pueden iniciarse y crecer en un medio de MURASHIGE y SKOOG (1962) pero con sólo auxina presente y su capacidad morfogenética ha sido puesta de manifiesto, incluso en cultivos de un año de edad (Resultados no publicados).

En experimentos preliminares, se ha puesto de manifiesto que cultivos de callos de E. scoparium podían crecer en un medio de cultivo sin hormonas a una tasa de crecimiento similar a la obtenida en presencia de la auxina ácido 2,4-diclorofenoxiacético 10^{-6} M. Este fenómeno podría ser debido a un proceso de habituación o a la persistencia de la auxina en los tejidos después de su eliminación en el medio de cultivo. Para intentar comprobar cual de éstas alternativas podría ser la real, hemos realizado las experiencias que se describen en el presente trabajo.

MATERIAL Y METODOS

1. Material.

El material utilizado en el presente trabajo consistió en cultivos de callo de un año de edad iniciados a partir de segmentos de tallos jóvenes de Erysimum scoparium (Brouss. ex Willd.) Wettst. (PEREZ FRANCES et al., 1982).

2. Métodos.

Las técnicas y condiciones de cultivo utilizadas en el presente trabajo fueron similares a las descritas por PEREZ FRANCES et al., (1982).

El mantenimiento de los cultivos de callo se realizó repicándolos a un medio fresco cada 30 días durante un año. En ésta fase el medio de cultivo utilizado fue el descrito por MURASHIGE y SKOOG (1962) suplementado con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (10^{-6} M) y sin citoquininas. En una segunda fase, los cultivos fueron transferidos a un medio fresco cada 30 días durante cuatro meses. El número de cultivos utilizados en cada replicaje fue de 48. Los recipientes de cultivo fueron tubos de ensayo (30 x 160 mm) conteniendo 20.8 ml de medio. Se realizaron análisis de peso fresco y seco y se calcularon las medias y desviaciones típicas, que son representadas en la figura 1.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los cultivos de callo de E. scoparium son capaces de crecer en un medio carente de hormonas de crecimiento. Como se observa en los histogramas de la figura 1, el peso fresco de los cultivos se mantuvo constante durante los cuatro meses de la experiencia. Los resultados de peso seco mostraron una mayor variabilidad como se observa en la gráfica y aunque durante el tercer y cuarto mes, el peso seco es algo menor que durante los dos primeros meses, el crecimiento de los cultivos es evidente.

Estos resultados apoyan la idea de que esta línea de cultivo es de tipo habituado pues en principio debemos suponer que después de cuatro meses de crecer en un medio sin hormonas, podemos concluir que toda la hormona exógena procedente de la fase de cultivo en el medio de mantenimiento conteniendo ácido 2,4-diclorofenoxiacético, ha sido eliminada.

Parece claro que estos cultivos tienen la capacidad de producir sus propias hormonas como ocurre con los tejidos tumorales. No podemos de todos modos, considerar a estos cultivos como tumorales. Los tejidos tumorales crecen en un medio

carente de auxina y la adición de hormona no mejora su crecimiento (STREET, 1969), mientras que los callos de E. scoparium son sensibles a una concentración adecuada de ácido 2,4-diclorofenoxiacético aunque pueden crecer en ausencia de hormonas.

Queremos recalcar que estos cultivos supuestamente "habituados" se obtuvieron sin ningún tratamiento especial para tal fin. FURUYA et al., (1983) obtuvieron callos habituados de Panax ginseng por sucesivos tratamientos con bajas concentraciones de ácido 2,4-diclorofenoxiacético. En otros casos, la autonomía ha podido conseguirse por el tratamiento de los cultivos con agentes mutágenos (KUROSAKI et al., 1981). Ninguno de éstos ha sido nuestro caso, habiendo surgido la autonomía hormonal de forma espontánea.

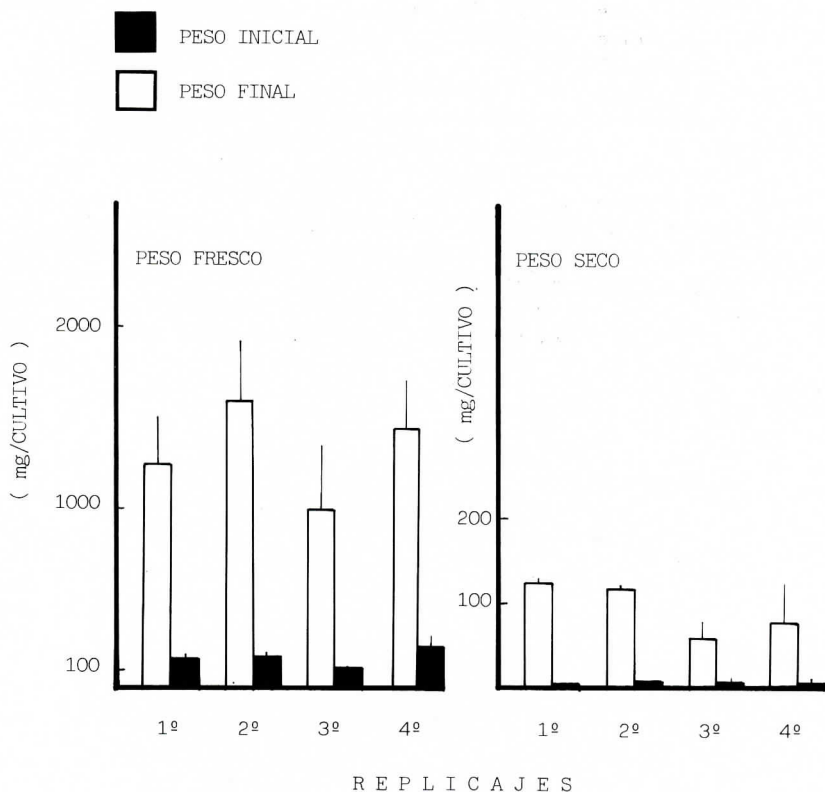


FIG. 1. Resultados de peso fresco (izquierda) y peso seco (derecha) de cultivos de callo de E. scoparium creciendo durante 4 replicas en un medio sin hormonas de crecimiento. Cada replicaje se realizó a los 30 días del anterior. Se indican para cada replicaje, el peso medio inicial y final y las correspondientes desviaciones típicas.

BIBLIOGRAFIA

- BENNICI, A. 1983. Expression of hormone-autotrophy in tissues of plantlets regenerated from habituated callus of Nicotiana bigelovii. Plant Cell Tissue Organ Culture 2: 355-358.
- FURUYA, T., T. YOSHIKANA, T. ISHII & K. KAJII, 1983. Effects of auxins on growth and saponin production in callus cultures of Panax ginseng. Planta Médica, 47: 183-187.
- GAUTHERET, R.J., 1955. Sur la variabilité des propriétés physiologiques des cultures de tissus végétaux. Rev. Gen. Bot. 62: 1-110.
- KUROSAKI, F., K. SHUDO, T. OKAMOTO & Y. ISOGAI, 1981. Induction of cytokinin-autonomous tobacco callus transformation of cultured tobacco callus by mutagenic heteroaromatic amines. Bioch. Biophys. Res. Comm. 102: 1130-1135.
- LUTZ, A. 1971. Aptitudes morphogénétiques des cultures de tissus d'origine unicellulaire. Colloques internationaux CNRS. Les cultures de tissus de plantes. No. 193: 163-168.
- MURASHIGE, T. & F. SKOOG (1962). A Revised Medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- PEREZ FRANCES, J.F., E. IGLESIAS, N. SAMARIN & A.C. BLESÁ, 1982. Inducción y crecimiento de cultivos de tejidos de Erysimum scoparium. Anal. Edaf. Agrobiol. 41: 2303-2313.
- PEREZ FRANCES, J.F., F. VALDES, A.J. CARMONA & A.C. BLESÁ, 1985. Inducción y cultivo de callos procedentes de explantes de hipocótilo, cotiledón y radícula de Erysimum scoparium. Anal. Edaf. Agrobiol. 44: 1173-1182.
- STREET, H.E., 1969. Growth in organized and unorganized systems. En: Plant Physiology. A Treatise. (Ed. F.C. by F.C. Steward). Academic Press, Vol. VB, pp. 3-224.