

# ESTUDIO ANATÓMICO COMPARATIVO DE CULTIVOS CALLOGENÉTICOS DE *Ipomoea murucoides* ROEM. ET SCHULT (CONVOLVULACEA) UTILIZANDO DIFERENTES FITORREGULADORES.

Patricia Gómez<sup>\*1</sup>, Eduardo Aranda<sup>1</sup>, Judith Márquez<sup>2</sup>, Patricia Castillo<sup>1\*</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Botánica Estructural, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. C.P. 62210. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Laboratorio de Desarrollo Vegetal, UNAM. [castillo@cib.uaem.mx](mailto:castillo@cib.uaem.mx).

Palabras clave: *Ipomoea*, *desdiferenciación*, *rizogénesis*.

**Introducción** El cultivo de células y tejidos vegetales ha permitido la manipulación de especies con diversos fines sin necesidad de tener la planta completa. Los estudios sobre el análisis del crecimiento y desarrollo de cultivos *in vitro* a nivel estructural permiten determinar: a) el momento en que los tejidos constituidos por células diferenciadas se empiezan a desdiferenciar, b) en que tipo de células o tejidos ocurre la desdiferenciación, c) el estado de diferenciación de los cultivos *in vitro* d) los procesos morfogénéticos (formación de órganos o embriones adventicios). Por lo anterior es posible plantear estrategias relacionadas con la manipulación o manejo biotecnológico adecuado de las especies, como: el tiempo de exposición de los explantes a ciertos fitorreguladores y demostrar los eventos morfogénéticos, entre otros. Para ello, en el presente trabajo se analizó comparativamente la morfología y la estructura interna de los callos de *I. murucoides* inducidos con diferentes tipos de auxinas, contribuyendo a su manipulación biotecnológica adecuada y posteriores estudios en relación con el contenido de metabolitos secundarios y la actividad biológica.

**Metodología** Para establecer los cultivos callogénéticos de *I. murucoides*, se tomó como referencia el trabajo preliminar de Pichardo, et al (1). Hipocótilos de plántulas germinadas *in vitro* de 7-10 días de edad fueron utilizados como explantes y se colocaron en frascos gerber conteniendo el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), suplementado con diferentes tipos de auxinas: 2,4-D, ANA y AIA (13.57 $\mu$ M) e incubados durante 8 semanas. Después de 4 semanas, el 50% de los cultivos de cada tratamiento fueron transferidos al medio MS sin fitorreguladores. Las técnicas histológicas empleadas fueron aquellas propuestas por López-Curto *et al.* (2), con adaptaciones para la especie en estudio. Seis muestras por tratamiento se fijaron durante los 7 primeros días, y después cada siete días hasta completar un total de 56 días, en una solución buffer de fosfatos con glutaraldehído al 3.0% y paraformaldehído al 1.5% durante 24 horas. Posteriormente se deshidrataron en alcoholes progresivos y una serie de etanol-xilol (4/1,3/2,1/3) seguida de xilol-paraplast (3/1,2/2,1/3). Posteriormente las muestras se incluyeron en paraplast puro antes de realizar los cortes histológicos (7  $\mu$ m). Finalmente, los cortes fueron desparafinados y teñidos con azul de toluidina y se observaron al microscopio compuesto. Algunas muestras

fueron incluidas en resina LRWhite y cortadas en ultramicrotomo (800-1000 nm).

**Resultados y Discusión.** Al emplear cualquier tipo de auxina fue posible la inducción de callos en *I. murucoides*. Dependiendo de la auxina empleada los callos variaron en tiempo de formación y características morfológicas. Al utilizar 2,4-D en el medio de cultivo se inició más pronto la formación de callos (2<sup>a</sup>. semana), seguida por AIA y finalmente ANA. Mediante el análisis histológico de los cultivos *in vitro* se registró el proceso de desdiferenciación celular en algunas regiones de los explantes, a partir de células parénquimáticas que rodean los haces vasculares, observaciones que concuerdan con otros reportes (3), en donde hubo una gran división celular dando lugar a la formación del callo, constituido por células meristemáticas y células parénquimáticas. También se demostraron los procesos de rizogénesis directa al emplear cualquiera de los fitorreguladores y rizogénesis indirecta al utilizar ANA y 2,4-D.



A) Apariencia de explantes con raíces adventicias después de 2 semanas de cultivo en AIA. B) Corte transversal de hipocotilo mostrando los tejidos intactos y la formación de un primordio de raíz. C) Callos rizogénicos formados al emplear 2,4-D, D) Detalle de un primordio originado vía morfogénesis indirecta, mostrando el meristemo apical de raíz

**Conclusión** Mediante el empleo de algunos fitorreguladores es posible la inducción de callos con varios estados de diferenciación y morfogénesis en *I. murucoides*.

**Agradecimientos.** Al CONACYT, Proyecto 29065-B.

A la Biol. Lorena López de la Unidad de Microscopía IBT-UNAM.

## Bibliografía

- 1.-Pichardo M; Gómez P, Aranda E., y Castillo P. (2001). *Revista Latinoamericana de Química. Suplemento*. Noviembre de 2001. p. 97
- 2.- López C, Márquez J, Murguía G. (1998)..1<sup>a</sup> Ed. Facultad de Ciencias, UNAM. p. 13-17, 29-33.
- 3.- Berthouly M y Michaux -Ferriere N (1996). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 44:169-176.