



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



MORFOGENESIS *IN VITRO* EN EXPLANTES NODALES DE *Dioscorea remotiflora* Kunth.

Antonio Bernabé Antonio¹, Francisco Cruz Sosa², Fernando Santacruz Ruvalcaba¹. 1 Universidad de Guadalajara, CUCBA, Depto. de Producción Agrícola; Guadalajara, Jal., C.P. 45510. 2 Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología; México. D.F., C.P. 09340. bernabe_aa@hotmail.com.

Palabras clave: micropropagación, raíces, callos.

Introducción. Los tubérculos del género *Dioscorea* se caracteriza por producir diosgenina (1). Además han contribuido en gran medida a la alimentación de países africanos, asiáticos y de América (2). Por otra parte, se han realizado diversos estudios en los que reportan una gama de actividades biológicas. En México existen alrededor de 65 especies de *Dioscorea* de las cuales 40 son endémicas (3), y se extraen grandes cantidades de tubérculos, reduciéndose así las poblaciones silvestres. Para inducir la formación múltiple de brotes y/o callos y establecer una línea celular capaz de producir diosgenina, se evaluaron diferentes combinaciones y concentraciones de citocininas y auxinas en explantes de *D. remotiflora* Kunth.

Metodología. Explantes nodales previamente esterilizados se incubaron en medio estéril MS, sacarosa 3%, PVP 1 g/L y solución antioxidante (ácido cítrico 100 mg/L y ácido ascórbico 150 mg/L). Se incorporaron al medio los tratamientos: a) inducción de brotes y/o callo [KIN + (2,4-D ó ANA) y BA + (2,4-D ó ANA)], en concentraciones de 0-10.74 μM ; b) Inducción de callo ANA ó PIC); c) enraizamiento de brotes AIB. En tratamientos a) y b) se usaron de 0-41.4 μM . El pH del medio se ajustó a 5.8, y los cultivos se incubaron a 26 ± 2 °C y 16 horas luz.

Resultados. Las respuestas de inducción de brotes y callos fueron a las 2 y 4 semanas de cultivo, respectivamente. La incorporación individual de citocininas (KIN ó BA) desarrollaron brotes, siendo la KIN la que presentó la mayor respuesta (100%) en todas las concentraciones en comparación con el testigo (96%) (Tabla 1). Específicamente cuando se aplicó sólo KIN 2.33 μM se obtuvo el mayor número de brotes (5.6), nodos (5) y hojas (8), por explante (Fig. 1a, Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de diferentes concentraciones de KIN y ANA en *D. remotiflora* Kunth.

*RCV (μM)		% Inducción de callo	% Inducción de Brotes	No. Brotes	No. Nodos	No. Hojas
KIN	ANA					
Control		0.0 \pm 0.0 ^d	96.2 \pm 5.4 ^a	3.1 \pm 0.18 ^{de}	3.1 \pm 0.18 ^c	3.8 \pm 0.21 ^c
2.33		0.0 \pm 0.0 ^d	100.0 \pm 0.0 ^a	5.6 \pm 0.18 ^a	5.0 \pm 0.0 ^a	7.9 \pm 0.53 ^a
4.65		0.0 \pm 0.0 ^d	100.0 \pm 0.0 ^a	3.5 \pm 0.14 ^{bc}	3.3 \pm 0.16 ^c	5.3 \pm 0.35 ^b
9.3		0.0 \pm 0.0 ^d	100.0 \pm 0.0 ^a	3.8 \pm 0.21 ^b	2.3 \pm 0.07 ^d	4.8 \pm 0.35 ^b
	2.69	87.5 \pm 7.1 ^a	91.7 \pm 6.3 ^{ab}	3.0 \pm 0.14 ^e	3.5 \pm 0.20 ^b	4.9 \pm 0.18 ^b
	5.37	85.4 \pm 7.8 ^{ab}	92.9 \pm 5.9 ^a	3.4 \pm 0.14 ^{cd}	3.1 \pm 0.11 ^c	5.0 \pm 0.35 ^b
	10.74	77.5 \pm 3.0 ^b	83.8 \pm 5.3 ^b	1.9 \pm 0.18 ^g	0.9 \pm 0.11 ^f	2.0 \pm 0.14 ^{de}

* Solo se muestran los tratamientos más destacados del experimento a).

Las combinaciones de KIN 2.33 μM + (2,4-D 5.37 μM ó ANA 5.37 μM) y KIN 9.30 μM + (2,4-D 5.37 μM ó ANA 2.69 μM) destacaron en la mayor inducción de callo (100%), pero sin crecimiento y de aspecto necrótico.

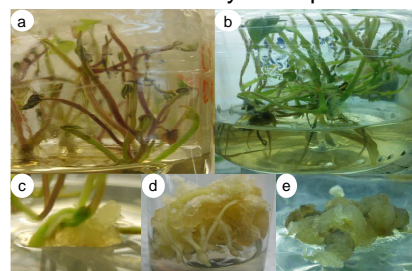


Fig. 1. Respuestas morfogénicas inducidas en *D. remotiflora* Kunth con KIN (a), AIB (b), ANA (c y d), y PIC (e).

A diferencia de ANA 2.69 μM , tuvo 87.5% de inducción de callo friable además de brotes y presencia de una raíz tuberosa (Fig. 1c). Sin embargo, al separar el callo friable de los brotes, los callos detuvieron su crecimiento y tomaron una coloración oscura. Por lo que se emplearon concentraciones más elevadas de ANA, además de PIC, sin citocininas, en los cuales, ANA 41.4 μM y PIC 0.41 μM , tuvieron 100% de inducción (tablas no mostradas) de callo friable sin brotes, de buena apariencia y con presencia de algunas raíces (Fig. 1d, e). En la aplicación de AIB todos los tratamientos desarrollaron raíces (Fig. 1b), principalmente con AIB 8.28 μM , el cual formó el mayor número de raíces por explante (7.2).

Conclusiones. En esta primera etapa, los tratamientos que formaron brotes y/o callo friable son deseables puesto que se obtendría un protocolo de micropropagación y una línea celular para la posterior producción de diosgenina y otros esteroides de interés, además de que se podría inducir microtuberización.

Agradecimiento. CONACYT, COECYTJAL-UDG.

Bibliografía.

- Sautour M, Mitaine-Offer C, Lacaille-Dubois A. (2007). J Nat Med 61 (2):91-101
- Mitchell A, Asemota N, Anghad H. (1995). J Sci Food Agri 67 (2): 173-180.
- Tellez O. (1996). Dioscoreaceae. En: *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Fascículo 9. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. pp.1-13.