

Nota Técnica.

INFLUENCIA DE LA ARGININA EN LA DIFERENCIACION DE RAICES EN TEJIDOS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVADOS IN VITRO¹ *.

Oscar Arias** y Otto Crocomo***

ABSTRACT. Effect of arginine on the root differentiation in tissue cultures of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). A preliminary study was undertaken to evaluate the effect of increasing levels of arginine, 0, 30, 60, 120 and 240 mg/1, on the differentiation of roots in tissue cultures of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). A treatment with hydrolized casein (at a concentration of 2 g/1 was also included. The culture medium proposed by Veliky and Martin was used in this study.

Arginine concentrations of 120 and 240 mg/1 induced the development of roots, but the treatment with hydrolized casein proved to be superior.

For further study the use of higher concentration of arginine as well as the inclusion of other aminoacids present in the hydrolized casein are suggested.

INTRODUCCION

Los aminoácidos han sido utilizados por varios autores como la única fuente de nitrógeno en cultivo de tejidos (1, 2). El efecto y los requerimientos de aminoácidos varía según el tipo de tejido en estudio; las mezclas de aminoácidos contenidos en la caseína hidrolizada o en algunos extractos naturales, son mejores que los componentes de éstos agregados individualmente (1).

No obstante lo anterior y dado que para estudios bioquímicos en frijol resulta necesario conocer la composición exacta del medio de cultivo, se diseñó el presente experimento, a fin de estudiar niveles crecientes de arginina en el medio de cultivo propuesto por Veliky y Martin (3).

MATERIALES Y METODOS

Como material experimental se utilizó secciones de aproximadamente 4 mm de lado de la lámina de hojas unifoliadas de plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* c v. 'carioca', de dos semanas de edad.

Las semillas de frijol se sembraron en una bandeja con vermiculita estéril. Las plántulas de una semana de edad fueron transferidas a un medio de cultivo hidropónico (solución de Hoagland y Arnon N° 2). Así se mantuvieron durante una semana al cabo de la cual las hojas unifoliadas habían adquirido su completo desarrollo. Las hojas se separaron de la planta, se esterilizaron con una solución de hipoclorito de sodio al 0,4% por 20 minutos y se lavaron dos veces con agua destilada estéril en agitación.

Cada una de las pequeñas secciones de hoja se colocaron en frascos de 20 x 150 mm que contenían 10 ml del medio básico descrito por Veliky y Martin (3), suplementado con 20 g/1 de sacarosa, 100 mg/1 de inositol, 50 mg/1 de ácido aspártico, 10 mg/1 de D-L cisteína, 1 mg/1 de cinetina, 5 mg/1 de ácido indol acético. El pH final del medio se ajustó a 5, 6.

Utilizando el sustrato descrito se agregaron 0, 30, 60, 120 y 240 mg/1 de arginina y se incluyó otro tratamiento que contenía los mismos factores

1 Recibido para su publicación el 16 de febrero de 1979

* Trabajo realizado en el Centro de Energía Nuclear en Agricultura, Piracicaba, Brasil.

** Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica.

*** Centro de Energía Nuclear en Agricultura C. P. 96, 13.400 Piracicaba, Brasil.

de crecimiento pero que en lugar de los aminoácidos citados contenía 2 g/l de caseína hidrolizada.

Tres semanas después de iniciado el experimento se efectuó la evaluación para crecimiento de callo y diferenciación de raíces utilizando una escala de 1 a 4. Los valores de 1 a 3 diferían únicamente en el orden creciente de producción de callo y el cuarto valor se empleó en los casos en que hubo desarrollo de raíces (Fig. 1). El peso fresco de cada uno de los estándares usados en la evaluación fue: 1 = 0,205 g; 2 = 0,372 g; 3 = 0,401 g; 4 = 0,425 g.

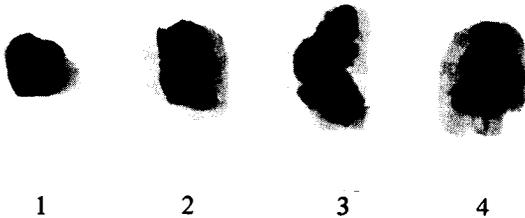


Fig. 1 Estándares usados en la evaluación del crecimiento y diferenciación de tejidos en frijol (*Phaseolus vulgaris*) cv. carioca. De 1 a 3 hay mayor producción de callo; y 4 implica desarrollo de raíces.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se presenta la calificación de desarrollo de callo y diferenciación de raíces en cada uno de los tratamientos. Al comparar el porcentaje de tratamientos que presentaron desarrollo de raíces (calificación 4), se observa que éstos aparecieron con mayor frecuencia en los tratamientos con 120 y 240 mg/l de arginina. Estos resultados son sustancialmente superiores a los encontrados con las dosis de 0, 30 y 60 mg/l del mismo producto.

El efecto favorable en el estímulo del crecimiento y la diferenciación de raíces en frijol concuerda con lo observado por otros autores en caña de azúcar (4, 5).

Los mejores resultados obtenidos con caseína hidrolizada en relación a los obtenidos con los ami-

Cuadro 1. Crecimiento de callo y diferenciación de raíces en frijol.

Dosis de arginina mg/l	Calificación				Número de repeticiones
	1	2	3	4	
0	0	8	8	3	19
30	1	8	6	2	17
60	4	11	2	2	19
120	2	7	4	7	20
240	1	8	4	6	19
Caseína hidrolizada (2g/l)	2	3	4	8	17

noácidos puros corroboran los resultados de Yazawa y Furuhashi (6). Esto sugiere la conveniencia de investigar el efecto de concentraciones más elevadas de arginina, y de otros aminoácidos y la posibilidad de un efecto estimulante de los demás componentes de la caseína hidrolizada (Cuadro 2) ausentes en el medio de cultivo cuando se trabajó con los aminoácidos puros.

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos en 2 g de caseína hidrolizada.

Aminoácido	Concentración mg
Arginina	34,65
Acido aspártico	127,68
Cisteína	Trazas
Acido glutámico	0,31
Glicina	29,50
Histidina	22,05
Isoleucina	32,86
Metionina	25,51
Fenilalanina	33,18
Prolina	134,40
Serina	72,87
Treolina	49,14
Tirosina	10,92

RESUMEN

Se realizó un estudio con el objeto de evaluar la influencia de niveles crecientes de arginina en la di-

ferenciación de raíces en tejidos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas *in vitro*, utilizando el medio de cultivo propuesto por Veliky y Martin. se evaluaron los siguientes niveles 0, 30, 60, 120 y 240 mg/l. Se probó además un tratamiento con 2 g/l de caseína hidrolizada.

Los resultados indicaron que las dosis de 120 y 240 mg/l favorecieron el desarrollo de raíces y fueron superadas sólo por el tratamiento con caseína hidrolizada.

Se sugiere realizar estudios con dosis más elevadas de arginina así como la necesidad de investigar el efecto estimulante de algunos otros aminoácidos que son componentes de la caseína y que no formaron parte de los tratamientos donde se utilizó la arginina.

LITERATURA CITADA

- 1- STREET, H. E. Special problems raised by organ and tissue culture. Correlation between organs of higher plants as consequence of specific metabolic requirements. *Enciclopedia of Plant Physiology*. 11:153-178. 1959.
 - 2- FURUHASHI, K. y YATAZAWA, M. Amino acids as nitrogen sources for the growth of rice callus tissue. *Plant and Cell Physiology*. 11:559-567. 1970.
 - 3- VELIKY, I. A. y MARTIN S. M. A fermenter for plant cell suspension cultures. *Canadian Journal of Microbiology* 16:223-226. 1970.
 - 4- NICKELL, L. G. y MARETZKI, A. Growth of suspension cultures of sugarcane cells in chemically defined media. *Physiologia Plantarum* 22:117-125. 1969.
 - 5- MARETZKY, A., NICKELL, L. G. y THOM, M. Arginine in growing cells of sugarcane. Nutritional effects, uptake and incorporation into proteins. *Physiologia Plantarum* 22:827-839. 1969.
 - 6- YATAZAWA, M. y FURUHASHI, K. Nitrogen sources for the growth of rice callus tissue. *Soil Science and Plant Nutrition*. 14:73-78. 1968.
- PIGNANI y MATA: Medición de hidrofobicidad en suelos
- 4- FOWES, F. M. ed. *Hydrophobic surfaces*. Academic Press, New York, 1969. 227 p.
 - 5- HANSCH, C. y FUJITA, T. New substituent constant, π , derived from partition coefficients, *Journal American Chemical Society*, 86:5175-5180. 1964.
 - 6- NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY. Programa de regresión polinómica del paquete SAS. Versión de agosto, 1972. s.p.
 - 7- VALVERDE, E. Estudios de azufre en nueve suelos del Atlántico Norte de Costa Rica. Tesis Ing. Agr., Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 1977. 65 p.
 - 8- VALVERDE, E., BORNEMISZA, E., y ALVARADO, A. Disponibilidad de azufre en algunos suelos del Atlántico Norte de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 2:147-155. 1978.