

Inducción de raíces adventicias en hojas de castaño para el estudio de las bases moleculares del enraizamiento

Elena Varas, Purificación Covelo, Conchi Sánchez

Dpto. Fisiología Vegetal. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia. IIAG. (CSIC). Avda. de Vigo s/n. 15705. Santiago de Compostela, A Coruña.

elena.varas@iiag.csic.es

Palabras clave: auxinas, castaño, expresión génica, hojas, NPA

Resumen

El enraizamiento adventicio es un complejo proceso que todavía no se conoce en profundidad, y es un paso crucial en la propagación de genotipos elite de especies forestales. En nuestro laboratorio se desarrolló previamente un sistema experimental de brotes de castaño, establecidos en cultivo *in vitro* a partir de renuevos basales (RB) y de ramas de la copa (C) del mismo árbol (Sánchez y Vieitez, 1991). Estos brotes, presentan características morfológicas diferentes, así como diferente capacidad rizogénica asociadas al estado de maduración ontogenético del material. Mientras los brotes RB presentan un alto porcentaje de enraizamiento (90%), los brotes C apenas alcanzan un 10% de enraizamiento. Este sistema nos ha permitido realizar estudios a nivel anatómico, fisiológico, bioquímico y molecular (Ballester y col., 1999; Vielba y col., 2011). Sin embargo debido a la complejidad del brote, en donde ocurren de forma simultánea diversos procesos de desarrollo en respuesta al tratamiento auxínico, a veces los resultados no son concluyentes, y hasta el momento se desconocen en gran medida las bases moleculares de la formación de raíces adventicias.

El objetivo de este trabajo es 1) desarrollar un nuevo sistema experimental, simple y reproducible, utilizando hojas procedentes de los brotes cultivados *in vitro*, para estudiar los mecanismos moleculares que regulan la formación de raíces adventicias, y 2) analizar el patrón de expresión del gen *CsSCL1* en hojas para valorar si este sistema es extrapolable y comparable al de brotes, en los cuales la expresión de dicho gen se ha localizado en las células competentes que darán lugar a la formación de las raíces (Vielba y col., 2011).

Se utilizaron hojas procedentes de los brotes de castaño, Rb y C, para evaluar su capacidad de enraizamiento en respuesta al tratamiento con ácido 3-indolbutírico (AIB 25 μ M en el medio de cultivo durante 5 días y en oscuridad), y el efecto inhibitor del ácido naftiltalámico (NPA 500 μ M). Se comparó la capacidad rizogénica de las hojas con la de los brotes en respuesta a los diferentes tratamientos aplicados. Además, se tomaron muestras a diferentes tiempos durante el enraizamiento de las hojas para analizar la expresión del gen *CsSCL1*, mediante qPCR e hibridación *in situ*.

A nivel fisiológico ambos sistemas tienen una respuesta rizogénica similar, siendo más acusado el efecto inhibitor del NPA en el sistema de hojas. Los resultados del análisis de expresión sugieren que ambos sistemas son extrapolables. Las principales ventajas del sistema de hojas son, la disponibilidad de un mayor número de muestras, la simplicidad del tejido, y una mayor focalización de la respuesta fisiológica en el callo basal de la hoja.

Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (Ref. AGL2008-05105-C02/FOR) y la Xunta de Galicia (10MRV400033PR).