

¹⁴C-2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID UPTAKE AND FORMATION OF EMBRYOGENIC CALLI IN COCONUT PLUMULAR EXPLANTS CULTURED ON ACTIVATED CHARCOAL-FREE MEDIA

ABSORCIÓN DEL ÁCIDO ¹⁴C-2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO Y FORMACIÓN DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS EN EXPLANTES DE PLÚMULA DE COCOTERO CULTIVADOS EN MEDIO SIN CARBÓN ACTIVADO

Luis Sáenz^{1*}, Ramón Souza¹, José Luis Chan¹, Alfonso Azpeitia² and Carlos Oropeza¹.

¹Unidad de Biotecnología Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Calle 43 No. 130 Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97200 Mérida, Yucatán. Tel: 01 (999) 981-3966, Correo electrónico: vyca@cicy.mx. ²Campo Experimental Huimanguillo, Programa de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Km 1 Carr. Huimanguillo-Cárdenas. Apdo. Postal No. 17, C.P. 86400, Huimanguillo, Tabasco.

* Autor para correspondencia

SUMMARY

Research for the development of protocols for the micropropagation of coconut plants (*Cocos nucifera* L.) has encountered several difficulties, such as explant browning. Although browning could be overcome by adding activated charcoal, this additive can also bind components of the culture medium required for the tissue morphogenic responses; this adsorption can be up to 99 % of the growth regulators added to the medium. In this work we developed a protocol without the use of activated charcoal which is able to produce embryogenic calli from coconut palm plumules as explants. This protocol also allowed us to study the kinetic absorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by the explant, otherwise impossible in medium with activated charcoal. After evaluating different concentrations of 2,4-D in culture media without charcoal or polyvinylpyrrolidone (PVPP) instead, we found that about 43 % of coconut explants cultured in media containing 1 μ M 2,4-D without activated charcoal (with or without PVPP) formed embryogenic calli after four months. Yields were reproducible and similar to those obtained with medium containing activated charcoal and responses occurred more rapidly. Morphological observations of calli obtained in activated charcoal-free media were similar to those obtained in activated charcoal-containing medium. However there were differences in the histological observations, mainly in the shape of the nuclei of the proembryos of both types of callus. Uptake of ¹⁴C-2,4-D was studied in plumule explants cultured in activated charcoal-free medium. After 120 d of culture about 25 % of the original radioactivity originally in the medium was extracted from explants and their ¹⁴C-2,4-D concentration peaked within the first 20 d, before appearance of any morphogenic response.

Index words: *Cocos nucifera*, plumule, embryogenic calli, activated charcoal, ¹⁴C-2,4-D uptake.

RESUMEN

El desarrollo de un protocolo para la propagación del cocotero (*Cocos nucifera* L.) ha encontrado muchas dificultades, como el necrosamiento de los explantes. Aunque el necrosamiento puede evitarse con carbón activado agregado al medio de cultivo, este compuesto también adsorbe componentes del medio de cultivo requeridos para producir la respuesta morfológica. Tal adsorción puede ser del 99 % en reguladores del crecimiento. En el presente trabajo se desarrolló un protocolo sin carbón activado capaz de formar callos embriogénicos en explantes de plúmula de cocotero, el cual también permitió estudiar la cinética de absorción del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) en el explante, lo cual sería imposible en medio con carbón activado. Para ello se evaluó un medio con diferentes concentraciones de 2,4-D y otro sin carbón o con polivinilpirrolidona (PVPP) en lugar del carbón. Se encontró que aproximadamente 43 % de los explantes de cocotero cultivados en medio de cultivo con 1 μ M de 2,4-D y sin carbón activado (con o sin PVPP) formaron callos embriogénicos después de cuatro meses. Los rendimientos fueron reproducibles y similares a los obtenidos con medio de cultivo con carbón activado, y la respuesta ocurrió más rápidamente. Las observaciones morfológicas de los callos formados en los medios de cultivo libres de carbón activado fueron similares a los obtenidos en medio con carbón activado, pero hubo diferencias histológicas en la forma de los núcleos de los proembriones en ambos tipos de callos. La absorción del ¹⁴C-2,4-D en el explante se estudió en medio sin carbón activado, y a los 120 d de cultivo, aproximadamente 25 % de la radiactividad original en el medio fue extraída por los explantes y el máximo de la concentración de ¹⁴C-2,4-D se alcanzó en los primeros 20 d, antes de la observación de alguna respuesta morfológica.

Palabras clave: *Cocos nucifera*, plúmula, callo embriogénico, carbón activado, absorción de ¹⁴C-2,4-D.