



El medio de cultivo 2

Suplementos orgánicos

- **Vitaminas**
 - Las plantas no producen vitaminas
 - **Tiamina (Vit. B1)**
 - Metabolismo carbohidratos y síntesis de aa
 - **Myo-inositol**
 - Formación pectinas y hemicelulosas
 - **Acido nicotínico o niacina**
 - **Piridoxina (Vit. B6)**

Suplementos orgánicos

- Otras vitaminas
 - Acido pantoténico
 - Vitamina C (ácido ascórbico)
 - Antioxidante, división y elongación celular
 - Vitamina D
 - Vitamina E
 - Glicina (aminoácido)

Suplementos no definidos

- **Extracto de levadura (inositol y tiamina)**
- **Leche de coco**
 - **Aminoácidos**
 - **Acidos orgánicos**
 - **Acidos nucleicos**
 - **Purinas**
 - **Azúcar**
 - **Azúcar-alcohol**
 - **Vitaminas**
 - **Reguladores del crecimiento**
 - **Minerales**

Acidos orgánicos

- Agentes quelantes
- Tampón
 - Ojima and Ohira (1980)
 - Acido málico y cítrico corrigen deficiencia en Fe
- Nutrientes
 - Aumento del metabolismo del N

Azúcares

- **Energía**
- **Agente osmótico**

Azúcar como fuente de energía

- Autotrofía
 - Metabolismo de carbohidratos por asimilación de CO_2
 - Enriquecimiento de CO_2 y retirada de azúcar
 - Limitado número de ocasiones se observa in vitro
 - Sacarosa

Unos más que otros...

- Sacarosa
 - Glucosa
 - Maltosa
 - Rafinosa
 - » Manosa
 - » Lactosa

¿Por qué es mejor la sacarosa que la glucosa?

- Mejor translocación a los centros de crecimiento
- Menor impacto osmótico

Otros

- **Azúcares alcohol**
 - **Manitol, Sorbitol...**
- **Almidón**
 - **Liberación de amilasas, favorecida por giberelinas**
 - **Maretzki et al. (1971, 1974)**

Efectos de la sacarosa

- **Formación de elementos vasculares (+)**
- **Formación de clorofila (-)**

Azúcar como agente osmótico

- La adición de solutos a un solvente reduce el potencial osmótico de la solución
- $\psi_s = \psi_{\text{macronutrientes}} + \psi_{\text{azúcar}}$

Efectos y usos de osmolitos en cultivo de tejidos

- **Aislamiento y cultivo de protoplastos**
- **Crecimiento**
- **Contenido hídrico del tejido**
- **Morfogénesis**
 - **Apogamia en helechos**
 - **Diferenciación de yemas florales**
 - **Formación de raíz y crecimiento radical**
 - **Embriogénesis somática**
 - **Formación de órganos de almacenamiento**
 - **Cultivo de anteras**

El pH del medio de cultivo

- **Solubilidad de las sales**
- **Absorción de nutrientes del medio**
- **Reacciones químicas, especialmente las enzimáticas**
- **Eficiencia de los agentes solidificantes**

Tampones

- Aislamiento de protoplastos
- Cultivos celulares a bajas densidades
 - TRIS
 - MES
 - HEPES
 - CAPS

Medio líquido

- **Medio líquido**
 - **Aporte de Oxígeno**
 - **Hiperhidricidad**
 - **Cuando el potencial del medio es elevado entra agua en las células y las células se vuelven hiperhídricas**
 - **Se reduce:**
 - » **aumentando los osmolitos en el medio y/o la concentración de agar**
 - » **aireando el medio para evaporar el agua**

Uso del medio líquido

- **Cultivo de protoplastos**
- **Cultivos celulares/raíces**
 - Metabolitos secundarios
- **Propagación**
 - Embriones somáticos
 - Nódulos meristemáticos
 - Agregados de tallos
 - Microtubérculos

Matrices semisólidas

- **Agar**
- **Agarosa**
- **Alginatos**
- **Almidón**
- **Pectinas**

Agar

- Forma geles con agua que mezclan a 100 °C y solidifica a 45 °C
- No digerido por enzimas vegetales
- Inerte
- Polisacáridos a partir de galactosa
 - *Gelidium* y otras algas rojas
- Componente más caro del medio de cultivo

Alginatos

- **Heteropolímero binario**
 - ácido 1,4 - β - D mannuronico y ácido 1,4- α - L guluronico
 - Brown algae
 - La sal de sodio expuesta a iones Ca provoca la gelación
 - Cultivo de protoplastos
 - Encapsulación de semillas artificiales

Cultivos ventilados y soportes porosos

- **Menor humedad relativa**
- **Mayor transpiración**
- **Menor hiperhidricidad**
- **Posible autotrofía en medio sin azúcar**

Soportes porosos

- **Membranas de polipropileno**
- **Poliester fleece**
- **Papel de filtro ashless**
- **Mezcla de pulpa de papel y vermiculita**

Células inmobilizadas

- Aumentar el rendimiento de metabolitos secundarios a partir de células diferenciadas, con crecimiento lento

Auxinas

- Inducción de callo
- Rizogénesis
- Embriogénesis (2,4 D)

Citoquininas

- Estimulación de la división celular
- Formación de tallos adventicios
- Embriogénesis
- Proliferación de yemas axilares
- Inhibición de la rizogénesis

Giberelinas

- Elongación del tallo
- Inhibición del desarrollo
 - Inhibidores de la síntesis de giberelinas

Acido abscísico

- Embriogénesis
- Tolerancia a la sequía

Carbono activo

- **Absorción de compuestos secretados al medio de cultivo, inhibidores del crecimiento**
 - Fenoles de la herida, durante el establecimiento del cultivo
- **Impedir la formación de callo**
- **Promover morfogénesis, especialmente la embriogénesis**
- **Promover rizogénesis**
- **Absorción de metabolitos secundarios**

Habitación

- Capacidad de las células de pasar de un estado dependiente del aporte exógeno de una determinada sustancia a otro, independiente de dicha sustancia.