

CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA DE LA PLANTA MEDICINAL *Castilleja tenuiflora* EN CULTIVO LÍQUIDO

Guadalupe Salcedo, Raúl Valdez y Gabriela Trejo. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 24, Yautepec, Morelos, México, 62731. +52(735)3941896, gttapia@ipn.mx.

Palabras clave: brotes, cultivo líquido, micropropagación.

Introducción. El cultivo *in vitro* es útil para la conservación de germoplasma de plantas medicinales y su producción masiva. Su éxito depende del genotipo, la combinación de fitorreguladores y las condiciones de cultivo, entre otros factores. El método convencional de micropropagación *in vitro* en medio sólido (MCS) se caracteriza por uso de recipientes pequeños, agentes gelificantes y elevada mano de obra. El cultivo en medio líquido (MCL) es una opción para la automatización y permite obtener tasas de multiplicación más altas que el MCS (1). *Castilleja tenuiflora* (Scrophulariaceae, hierba del cáncer) es una planta silvestre utilizada en la medicina tradicional, tiene propiedades antioxidantes (2) y acumula compuestos de actividad citotóxica e inmunoestimulante (3). Previamente, se estableció un protocolo de reproducción *in vitro* en MCS que permite obtener hasta 4 brotes/explante (4). Sin embargo, este comportamiento es variable e insuficiente para producirla de forma masiva o como fuente de compuestos activos. El objetivo del trabajo fue establecer el cultivo *in vitro* de brotes de *C. tenuiflora* en MCL para la conservación de su germoplasma.

Metodología. Se utilizó la línea CtBra1 de brotes de *C. tenuiflora* conservada en medio B5, 3% sacarosa, 0.25 mg/L BAP y 0.1 mg/L IBA (MCM, 4). Se inocularon 60 brotes en cada condición experimental; MCL: frascos con 50 mL de B5 sin fitorreguladores; MCS: cajas Magenta con 80 mL de medio MCM. Después de 14 días se evaluó: tasa de multiplicación (TMB), altura de los brotes (AB), biomasa seca (BS) y fresca (BF), y vitrificación (%).

Resultados y discusión. La TMB en MCL fue 7.9, ocho veces mayor a la obtenida en MCS. En MCL, hubo mayor homogeneidad; los brotes fueron 2.7 veces más altos y la biomasa fue 5.5 veces mayor que en MCS.

Cuadro 1. Cultivo en medio sólido (MCS) y líquido (MCL) de brotes de *C. tenuiflora* (14 días)

	TMB	AB (mm)	BS (g)	BF (g)
MCS	1.1	11.8±13	0.26±0.3	2.12±0.2
MCL	7.9	31.3±9	0.64±0.1	11.74±0.5

En MCL se presentó 26.3% de vitrificación lo que no ocurrió en MCS. Esto puede ser debido a la acumulación

de gases como etileno y estrés oxidativo. Esta vitrificación se eliminó transfiriendo los brotes a medio sólido para enraizarlos, lográndose una conversión a plántulas en 100%.



Fig. 1. Brotes de *Castilleja tenuiflora* en medio líquido y sólido.

Las condiciones de cultivo en MCL como la agitación o la transferencia de masa favorecieron la obtención de una gran cantidad de material biológico que puede ser utilizado para conservar la especie, optimar las condiciones de aclimatación, realizar pruebas biológicas y la caracterización química. La TMB en MCL se ha mantenido constante por al menos 24 meses a diferencia de lo observado en MCS.

Conclusiones. El cultivo *in vitro* en medio líquido permite mayor multiplicación de brotes de *C. tenuiflora* que el MCS y permite la conservación de su germoplasma.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por SIP-IPN (20080101, 20090311) y FOMIX-Morelos (79409). R. Valdez es becario PIFI-IPN y CONACyT.

Bibliografía.

- Ziv, M. 2005. Simple bioreactors for mass propagation of plants. En: *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, Hvoslef-Eide, A.K., Preil, W. (eds.), Springer, The Netherlands. p: 79-93.
- Medina; V. 2008. Actividad antioxidante con DPPH, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de plantas crecidas en invernadero de *Castilleja tenuiflora* Benth. "hierba del cancer". Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Culiacán. México.
- Hung, J. Y., Yang, C. J., Tsai, Y. M., Huang, H.W., Huang, M. S. 2008. Antiproliferative activity of aucubin is through cell cycle arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* 35: 995-1001.
- Salcedo, G., Ventura, E., Evangelista, S., Zamilpa, A., Trejo-Tapia, G. (2008). Propagation and acclimatization of the cancer herb *Castilleja tenuiflora*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal* 44: 571.