



EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA A PARTIR DE RAÍCES PILOSAS DE *Lopezia racemosa* Cav.

Norma Elizabeth Moreno-Anzures¹, Laura Álvarez-Bérber², Irene Perea-Arango¹, Janeth Tellez Román³,
Alejandro Zamilpa⁴, Pilar Nicasio-Torres⁴, Patricia Castillo-España¹, Jesús Arellano-García¹

Centro Investigación en Biotecnología¹, Centro de Investigaciones Químicas², Laboratorio de Electrofisiología y Bioevaluación de Fármacos de la Facultad de Medicina³, UAEM, Av. Universidad No. 1001 Col. Chamilpa C.P.62209, Cuernavaca, Morelos, Centro de Investigación Biomédica del Sur⁴, Argentina N. 1 Col. Centro, Xochitepec, Morelos, México. norma.moreno@uaem.mx

Palabras clave: Embriogénesis somática, *Lopezia racemosa*, raíces pilosas

Introducción. El cultivo de raíces pilosas presenta varias ventajas, entre ellas estabilidad genética, mayor tasa de crecimiento y mayor producción del metabolito de interés, por lo que han sido ampliamente estudiadas para la producción de metabolitos secundarios. La habilidad de regeneración de plantas completas a partir de estos cultivos ha sido reportada (1). *Lopezia racemosa* es una hierba utilizada en la medicina tradicional para aliviar dolores, anginas, sarampión y cáncer de estómago (2). Se han generado exitosamente diversas líneas de raíces pilosas de *L. racemosa* de las cuales se ha obtenido callo embriogénico. El objetivo del presente estudio es la obtención de plántulas transformadas a partir de embriogénesis somática y evaluar la producción de metabolitos con actividad farmacológica.

Metodología. Obtención de raíces pilosas. Para llevar a cabo la transformación se tomó un cultivo bacteriano de 48 horas de crecimiento de la cepa *Agrobacterium rhizogenes* cepa ATCC 15834/pTDT y se colocaron en contacto con explantes de hojas de plántulas de 30 días de *Lopezia racemosa*, estos fueron co-cultivados por 48 horas en medio Murashige y Skoog/Gamborg (MS/B5). Posteriormente estos fueron subcultivados en MS sin fitohormonas suplementado con Ceftriaxona (400 mg/L) y Cefotaxima (200 mg/L), para eliminar la bacteria. Una vez que se generaron raíces pilosas se observaron bajo un microscopio de epifluorescencia para confirmar que las raíces estuvieran transformadas y además se llevó a cabo PCR para el gen *rol C*. Se realizaron subcultivos de las líneas seleccionadas cada 30 días hasta que se observó la formación de callo embriogénico. Análisis histológico. Las muestras de callo morfogénico fueron fijadas durante 72 hrs en una solución FAA (10 ml de formaldehído al 36%, 50 ml de etanol al 96%, 5ml de ácido acético en 35 ml de agua destilada). Posteriormente deshidratadas e infiltradas en parafina. Se obtuvieron muestras de 10 µm de grosor con un micrótopo rotatorio y fueron teñidas con safranina y verde rápido. Finalmente fueron observadas y fotografiadas en un Microscopio óptico.

Resultados. Formación de callo embriogénico de las líneas 7.17 y 6.4. Los cultivos de raíces fueron subcultivados cada 30 días durante un año ocho meses, la mayoría de las líneas seleccionadas mostraron un crecimiento de raíces pilosas, sin embargo, se observó la formación de callo con apariencia embriogénica en la línea 7.17 y 6.4. Este callo se mantuvo en medio MS/B5 y a partir de estos se obtuvieron plántulas, con la típica apariencia de plantas transformadas con *A. rhizogenes*. En los callos analizados mediante histología se observó la presencia de embriones en etapa globular y de corazón (Figura 1), confirmando de este modo que las plantas regeneradas se obtuvieron a partir de embriogénesis somática. En el futuro próximo se evaluará la capacidad de producción de metabolitos con actividad antiinflamatoria.

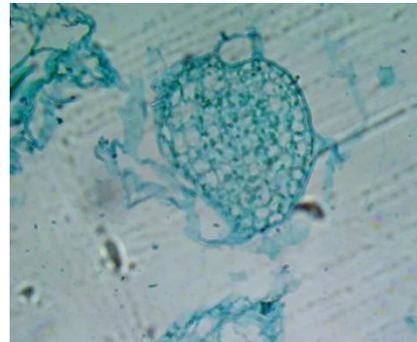


Fig. 1. Embrión somático de *Lopezia racemosa* en etapa globular

Conclusiones. Se obtuvieron embriones somáticos a partir de cultivos de raíces transformadas de *Lopezia racemosa*.

Agradecimiento. Al apoyo económico proporcionado por CONACYT con la beca 248596.

Bibliografía. 1.- Christey M., 2001. Invited Review: Use of Ri-mediated transformation for production of transgenic plants. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 37 pp 687-700.
2.- Monroy-Ortiz C. y Castillo-España P. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos CONABIO, CIB Y CEIB, UAEM, 2007 pp 197