



ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA OBTENCIÓN DE CALLO DE EXPLANTES FOLIARES DE *Hypericum perforatum*

Antonio Cuenca-Mejía¹, Tania Martínez-Valdez², Juan Orozco-Villafuerte², Leticia Buendía-González¹. ¹Facultad de Ciencias, ²Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, CP 50010, biotecnologia_AQnk@outlook.com

Palabras clave: *Hypericum perforatum*, cultivo in vitro, callo.

Introducción. *Hypericum perforatum* es una planta herbácea de la familia Hipericáceae, originaria de Europa, oeste de Asia, y el norte de África, especies del género *Hypericum* han sido usadas como plantas medicinales debido a su bioactividad cicatrizante, bactericida, antiinflamatoria, diurética y sedativa. *H. perforatum* es utilizada como un tratamiento para la depresión moderada. El cultivo in vitro ofrece la posibilidad de la producción masiva de los compuestos bioactivos, sin embargo, en la gran mayoría de plantas leñosas, la liberación de compuestos fenólicos de los explantes causa la oxidación y necrosamiento del mismo, siendo un obstáculo para el establecimiento de los cultivos in vitro [1].

El objetivo del presente trabajo fue el establecimiento de cultivos asépticos y la inducción de callo en explantes foliares de *Hypericum perforatum*.

Metodología. Hojas juveniles de *Hypericum perforatum* fueron desinfectadas superficialmente, seccionadas bajo condiciones asépticas y sembradas en medio de cultivo MS a la mitad de su concentración, suplementado con (a) 150 mg/L de ácido ascórbico y 100 mg/L de ácido cítrico, (b) 150 mg/L de ácido ascórbico y 100 mg/L de ácido cítrico y, 500 ó 1000 mg/L de carbón activado, (c) 150 mg/L de ácido ascórbico y 100 mg/L de ácido cítrico y 500 mg/L de PVP. Una vez establecido el cultivo con menores problemas de oxidación, explantes de hoja fueron sembrados en medio MS suplementado con diferentes concentraciones y combinaciones de los reguladores del crecimiento vegetal (RCV): 2,4-D (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/L) en combinación con KIN (0.1, 0.5 y 1.0 mg/L); y 150 mg/L de ácido ascórbico y 100 mg/L de ácido cítrico, 30 g/L de sacarosa, 500 mg/L de PVP y 2 g/L de phytigel. Los tratamientos consistieron de lotes de 5 tubos y por duplicado. Los cultivos fueron incubados en condiciones de oscuridad y fotoperiodo, y se realizaron subcultivos cada 20 días.

Resultados. Debido a los problemas fuertes de oxidación de los explantes foliares, se evaluaron diferentes compuestos antioxidantes y condiciones de incubación, siendo la formulación del cultivo 1/2MS con 150 mg/L de ácido ascórbico, 100 mg/L de ácido cítrico y 500 mg/L de PVP el tratamiento que evitó la oxidación/necrosamiento del explante foliar bajo ambas condiciones de incubación (Fig. 1a). Respecto a la formación de callo, los tratamientos que presentaron los

mayores porcentajes de inducción fueron los que contenían 1.5 mg/L de 2,4-D con 1.0 mg/L de KIN y 2.0 mg/L de 2,4-D con 0.5 mg/L de KIN (Tabla 1; Fig. 1b-c) Los cultivos derivados de estos tratamientos se están proliferando para la extracción de los compuestos bioactivos [2].



Fig. 1. Cultivos de explantes foliares de *Hypericum perforatum*. (a) Explante con problemas de oxidación, (b) Callo formado en medios conteniendo 1.5 mg/L de 2,4-D y 1.0 mg/L de KIN, (c) Callo formado en medios conteniendo 2.0 mg/L de 2,4-D y 0.5 mg/L de KIN, a los 36 días de cultivo.

Tabla 1. Tratamientos que mostraron inducción de callo, en medio 1/2MS con y sin PVP, a los 36 días de cultivo.

Tratamiento (mg/L)	500 mg/L PVP		Sin PVP	
	Oxidación (%)	Inducción de callo (%)	Oxidación (%)	Inducción de callo (%)
1.5 2,4-D+0.1 KIN	50	10	100	0
1.5 2,4-D+0.5 KIN	30	20	100	40
1.5 2,4-D+1.0 KIN	30	80	100	100
2.0 2,4-D+0.1 KIN	10	100	100	100
2.0 2,4-D+0.5 KIN	10	80	100	100
2.0 2,4-D+1.0 KIN	10	50	100	40

Conclusiones. Debido al origen leñoso de *H. perforatum*, es de particular importancia el establecimiento de cultivos con los menores problemas de oxidación para su posterior inducción de cualquier respuesta morfogénica o callo. El uso de PVP, además de disminuir los problemas de oxidación, induce la formación de callo con mayor friabilidad y crecimiento.

Agradecimiento. Agradecemos el financiamiento parcial a través del proyecto CONACyT-PEI/213838.

Bibliografía

- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, Rafar, M., & Iqbal, M. (2013). Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue Culture. American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Sciences, 13(4), 539–547.
- Pasqua, G., Avato, P., Monacelli, B., Santamaria, A. R., & Argentieri, M. P. (2003). Metabolites in cell suspension cultures, calli, and in vitro regenerated organs of *Hypericum perforatum* cv. Topas. Plant Science, 165(5), 977–982.