



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS DE CALLO DE *Datura* sp. PRODUCTORES DE ALCALOIDES TROPÁNICOS

Diana K Castro-Estrada¹, M. Dolores Hernández-Navarro¹, Felipe Cuenca-Mendoza¹, Leticia Buendía-González², Juan Orozco-Villafuerte¹. ¹Facultad de Química, ²Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, C.P. 50200, jov202001@yahoo.com.mx

Palabras clave: Datura sp., cultivos in vitro, producción de alcaloides.

Introducción. La demanda de productos naturales de interés farmacéutico provenientes de plantas, se ha incrementado en los últimos años dada la limitación de los procesos de obtención de medicamentos basados en la síntesis química. Adicionalmente, el costo de los biofármacos limita su disponibilidad en un amplio sector del mercado. Otro aspecto de interés ha sido que muchas especies vegetales están en peligro de extinción o se han extinguido debido a los problemas ambientales provocados por el hombre y a la sobreexplotación de las fuentes naturales [1;2]. Por lo que es comprensible el interés de grandes industrias en la producción de compuestos naturales de importancia comercial. Es en este contexto donde la biotecnología vegetal, específicamente el cultivo de tejidos vegetales, constituye una alternativa para la producción de metabolitos secundarios de interés [1-3].

El objetivo del presente trabajo fue generar un protocolo que permitiese establecer cultivos de callo de *Datura* spp. productores de alcaloides de tipo tropánico.

Metodología. Semillas de *Datura* sp. fueron desinfectadas superficialmente y sembradas en dos medios de cultivo. MS estándar como control y medio MS modificado con un alto contenido de micronutrientes (10X), ambos medios fueron suplementados con diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento vegetal (BAP, KIN, 2,4-D y ANA; 0.0-3.0 mg/L). En cada tratamiento evaluado se registró el tiempo y porcentaje de germinación, así como la morfología de las plántulas obtenidas y la formación de callo. Plántulas de 30 días de edad, generadas *in vitro*, fueron fuente de explante (raíz, hoja e hipocótilo), éstos fueron sembrados en ambos medios de cultivo descritos anteriormente. En cada tratamiento implementado se registró el porcentaje de callo formado. La biomasa obtenida (callos), fue subcultivada y proliferada, para obtener material vegetal suficiente para la identificación cualitativa de alcaloides, ésta se realizó por el método de Dragendorff y Wagner. Así como una cromatografía en capa fina y un análisis IR.

Resultados. La presencia de una alta concentración de micronutrientes junto con los reguladores del crecimiento vegetal utilizados, incidieron de manera importante en la morfología de las plántulas obtenidas (Fig. 1A). Se observó que las semillas germinadas en medio MS modificado, generaron plántulas con un hipocótilo muy

engrosado, hojas pequeñas y raíces cortas; respecto a la formación de callo, éste se generó en la base de la raíz, con baja incidencia. En contraste, las plántulas generadas en el medio MS control, presentaron tallos delgados y largos, hojas grandes y bien desarrolladas, y una larga raíz.

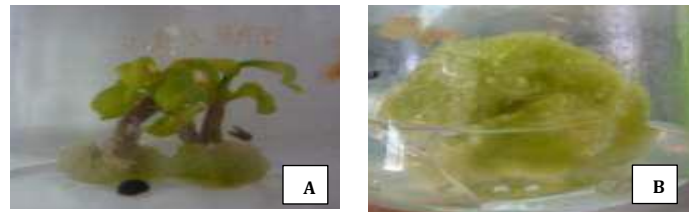


Fig. 1. Cultivos *in vitro* de *Datura* sp. (A) Plántula desarrollada en medio MS modificado, (B) Callo generado en explantes de hipocótilo en medio MS modificado, conteniendo 2,4-D y BAP, a los 30 días de cultivo.

De los explantes evaluados en la inducción de callo, la respuesta fue más rápida y evidente (cantidad de callo formado) en el hipocótilo, decreciendo en las hojas y en menor grado en la raíz. De igual forma, la inducción y la cantidad de callo, fue mayor en los tratamientos donde se empleó el medio MS modificado. Los cultivos de callo generados en explantes de hipocótilo en medio MS modificado conteniendo 1.0 mg/L 2,4-D y 1.0 mg/L BAP, fueron seleccionados, por su significativamente mayor inducción de callo (95%), para la extracción de alcaloides (Fig 1B). La determinación cualitativa de alcaloides dio positivo en las muestras de callo al igual que en hojas de especímenes adultos acondicionados en invernadero. Por otro lado, la cromatografía en capa fina y el análisis IR, permitieron identificar en las muestras de callo y hoja, a dos diferentes alcaloides, atropina y escapolamina

Conclusiones. Se establecieron cultivos de callo de *Datura* sp. con capacidad de sintetizar atropina y escapolamina, compuestos bioactivos que actúan en el sistema nervioso central.

Agradecimiento. Al CONACyT por el financiamiento del proyecto a través del convenio CB-2011/167564.

Bibliografía.

- 1.- Pérez-Alonso, N.L., y Jiménez-González, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. *Biotecnología vegetal*, 11, (4): 195-211.
- 2.- Makunga, N.P. y van Staden, J. (2008). Plant cell tissue and organ culture, 92:63-72.
- 3.- Kayser, O., Quax, W (2007). Medicinal plant biotechnology. From basic research to industrial application.. Wiley-VCH. Alemania.