

ESTABLECIMIENTO DE LÍNEAS DE CALLOS Y CÉLULAS TRANSFORMADAS DE *SOLANUM CHRYSOTRICHUM* PARA LA PRODUCCIÓN DE SAPONINAS ANTIMICÓTICAS MEDIANTE EL EMPLEO DE ESTIMULADORES BIÓTICOS.

Elizabeth Nava, Jesús Arellano y María Luisa Villarreal. Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos. Tel. 7773297057. enavag@cib.uaem.mx.

Palabras clave: *Solanum chrysotrichum*, saponinas, elicitors.

Introducción. Se ha reconocido que las plantas medicinales desempeñan un papel importante en los programas de salud de muchos países (1). Los principios químicos medicinales presentes en estas especies vegetales son metabolitos secundarios, que en algunas ocasiones se ha logrado incrementar su producción por técnicas biotecnológicas. Con los nuevos avances en biología molecular, se han obtenido plantas transgénicas resistentes a temperaturas extremas, a diversos tipos de plagas o enfermedades, así como para la producción de fármacos utilizados en la prevención y tratamiento de diversos males. *Solanum chrysotrichum*, es una planta medicinal utilizada para el tratamiento de infecciones dermatológicas, los compuestos bioactivos que le dan su propiedad antifúngica a esta planta son saponinas esteroidales las cuales presentan diferencias en su estructura química y actividad. Dávila, Y. en el 2003 (2), reportó 9 líneas celulares posiblemente transformadas, las cuales presentaron diferentes niveles de producción de saponinas. En el presente trabajo se planteó como objetivo general, demostrar la transformación genética de las líneas celulares obtenidas, evaluar la estabilidad genética en callos y células en suspensión de las líneas celulares transformadas de *Solanum chrysotrichum* y monitorear la producción de saponinas antimicóticas mediante el empleo de estimuladores bióticos.

Metodología. Se establecieron cultivos de células en suspensión de las 9 líneas de *Solanum chrysotrichum* obtenidas (2). La transformación genética fue confirmada mediante técnicas moleculares como: PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y Southern blot; una vez confirmada la transformación genética se determinará la estabilidad genética a lo largo de 24 meses con resiembras periódicas. Con la finalidad de incrementar la producción de saponinas, se emplearán estimuladores bióticos como: la celulasa de *Trichoderma viride*, metil jasmonato y criptogeína de *Phytophthora cryptogea*. La cuantificación e identificación de estos metabolitos se realizará con ayuda de técnicas cromatográficas como son: cromatografía en capa fina y cromatografía de líquidos de alta resolución; TLC y HPLC, respectivamente.

Resultados y discusión. Durante 12 meses se ha mantenido en crecimiento las 9 líneas celulares de callo, utilizando medio MS sin la adición de algún fitoregulator. A lo largo de este tiempo se logró establecer cultivos de células en suspensión para cinco de las nueve líneas celulares, en las mismas condiciones antes descritas. Figura 1. Con el análisis de las técnicas moleculares se

comprobó que sólo una de las nueve líneas está transformada, aún así, no se descarta la posibilidad de que el resto de las líneas no lo estén, debido a su capacidad de crecer en ausencia de fitoreguladores. En los análisis obtenidos por el HPLC se destaca la presencia de un compuesto con un tiempo de retención diferente a los estándares de las saponinas SC2, SC3 y SC4. De la misma manera en el análisis de TLC se observa la presencia de un nuevo compuesto el cual posiblemente corresponda a una saponina esteroidal. Con estos resultados se propone el aislamiento y purificación de dicho compuesto para elucidar su estructura química por medio de RMN (resonancia magnética nuclear).



Fig. 1. Cultivos de callo y células en suspensión de una de 9 líneas celulares de *Solanum chrysotrichum*.

Agradecimiento.

A la Dra. Ma. Luisa Villarreal, Dr. Jesús Arellano y personal técnico del laboratorio por el apoyo para la realización del proyecto. A CONACyT por el financiamiento de beca.

Bibliografía.

- (1) Lozoya, X. 1998. La herbolaria en México. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. Primera edición. Tercer milenio. México, DF. Pp. 44 – 35.
- (2) Dávila, Y. 2003. Cultivos *in vitro* de células transformadas de *Solanum chrysotrichum* para la producción de saponinas antimicóticas. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.