



ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO DE CÉLULAS TRANSFORMADAS DE *GALPHIMIA GLAUCA* EN SUSPENSIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE TRITERPENOS.

Anabel Ortiz^{1,2}, Mario Rodríguez², Cardoso Alexandre³, Ma. Luisa Villarreal¹. 1. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad # 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, (777) 3 297057, México. 2. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carr. Yauatepec, Jojutla Km 8.5. Yauatepec, Morelos. 62731. México. anabel@cib.uaem.mx

Palabras clave: *Galphimia glauca* Cav., triterpenos, transformación.

Introducción. Se han establecido diversos y novedosos protocolos para la transformación genética de algunas especies de plantas aunque aún son poco utilizados. Los métodos más demandados se basan principalmente en la infección de plantas con dos importantes bacterias del suelo *Agrobacterium tumefaciens* y *A. rhizogenes*. Ambas bacterias son patógenos capaces de inducir enfermedades en las plantas llamadas corona radiada (*A. tumefaciens*) y raíces peludas (*A. rhizogenes*).¹ Aún cuando la transformación es relativamente fácil de lograr, la regeneración de las plantas a partir del material transformado utilizado tiene diferentes grados de dificultad. Las plantas y el material vegetal transformado puede producir compuestos químicos especiales, mejorar la calidad de productos alimenticios, incrementar la resistencia a enfermedades y plagas, mejorar sus rendimientos normales; teniendo por lo tanto ventajas económicas. En estudios recientes reportados por Nader, 2004., utilizando raíces transformadas de *Galphimia glauca* demostró que estos cultivos no solo pueden producir los compuestos sedantes que se han reportado en esta planta, sino también triterpenos novedosos, lo que permite proponer una vía biosintética para la biosíntesis de estos compuestos.² Desafortunadamente, existen problemas para el escalamiento de este órgano vegetal a nivel industrial e incluso en estudios de laboratorio. Por lo anteriormente expuesto se propone el establecimiento de cultivos de células transformadas de *Galphimia glauca* con alta tasa de crecimiento y de producción de metabolitos secundarios bioactivos, como son los triterpenos sedantes

Metodología. Se estableció una línea transformada de células en suspensión de *Galphimia glauca* Cav. (GgBa) a partir de callos generados de un cultivo de raíces pilosas.² El medio para estas suspensiones celulares es en MS, adicionado con PVP 3g/l. Los cultivos se incubaron a 25°C, foto periodo (18 h/luz-6 h/oscuridad) a 100 rpm, sin adición de fitoreguladores. La cuantificación e identificación de los metabolitos de interés se realizó con ayuda de técnicas cromatográficas como son: cromatografía en capa fina y cromatografía de líquidos de alta resolución; las cuales han sido establecidas.

Resultados y discusión. La línea celular GgBa, ha sido cultivada por más de 18 meses en ausencia de fitoreguladores vegetales. Posteriormente se estableció un cultivo tipo lote en dos fases en matraz agitado de 125 ml durante 32 días, el cual alcanzó una fase estacionaria al día 21. El cultivo presentó un tiempo de duplicación de 6 días ($\mu = 0.13 \text{ días}^{-1}$) en comparación con una línea silvestre que presentó un tiempo de duplicación de 7.7 días⁻¹ ($\mu = 0.094 \text{ días}^{-1}$). El máximo rendimiento de la

biomasa fue de 11.3 g/l en peso seco en el día 21 de cultivo, lo que representó un incremento de 10 veces el peso del inóculo. Utilizando cromatografía líquida de alta presión en fase reversa se identificaron y cuantificaron nor fridelanos aislados de la fracción con actividad sedante a partir de los cultivos transformados. (Figura 1). Con estos resultados se propone el aislamiento y purificación de dicho (s) compuesto (s) con el fin de elucidar su estructura química por medio de RMN (resonancia magnética nuclear). Así mismo, es necesario verificar la transformación genética de estas células por técnicas moleculares.

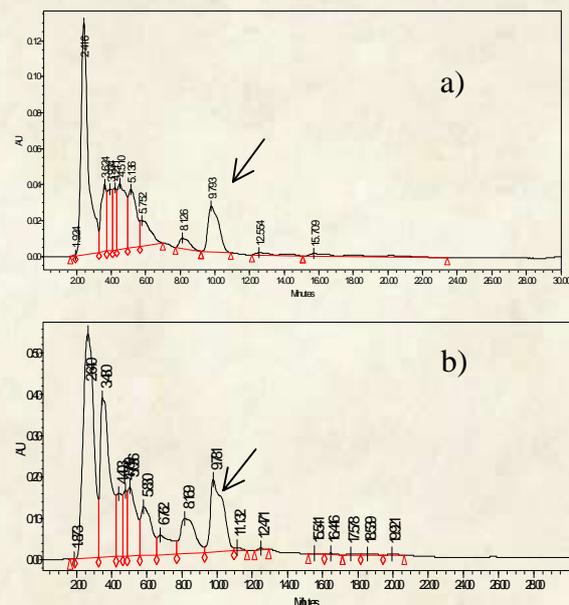


Figura 1. a) Perfil cromatográfico de nor fridelano de raíces pilosas y b) nor fridelano de células transformadas

Bibliografía.

- 1.- Hooykaas, P. 1989. Plant Molecular Biology. **13**:327-336.
- 2.- Nader, et al; 2004. Tesis de Doctorado/UAEM. 76-89.