



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS DE CALLO DE *Stevia rebaudiana* (BERTONI) HEMSL. A PARTIR DE EXPLANTES FOLIARES

Claudia Oriza, Sergio Zarate, Leticia Buendía, Juan Orozco, J. Ángel Lechuga
Dpto. de Biotecnología, UAM-Iztapalapa San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina 09340 México, D.F. Fax (5)
8044712, e-mail: cuhp@xanum.uam.mx

Palabras clave: Stevia rebaudiana, in vitro, cultivos de callo

Introducción. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsl. es miembro de la familia Asteraceae, hierba perenne originaria del noroeste de Paraguay y del sureste de Brasil. Las hojas de *Stevia* contienen una serie de glucósidos, los cuales tienen un poder edulcorante de 100 a 400 mayor que la D-glucosa (1). Los glucósidos son compuestos no tóxicos, no mutagénicos y bajos en calorías, por tal motivo han sido utilizados como sustitutos de azúcares y recomendados para el consumo de pacientes diabéticos (2). Debido a ello recientemente se ha adoptado su uso como alternativa del azúcar común o edulcorantes artificiales, lo que hace al cultivo de *Stevia* económicamente importante. Desafortunadamente, la propagación de *Stevia* por semillas es inadecuada debido a la variación intraespecífica de diversas características importantes de la planta, como el contenido de glicosidos (3). El cultivo de tejidos vegetales es una valiosa alternativa para la clonación de individuos productores o sobre productores de los esteviolglucósidos. El presente trabajo pretende establecer las condiciones experimentales para inducir la formación de callo en explantes foliares de *S. rebaudiana*.

Metodología. Segmentos nodales de plantas adultas de *S. rebaudiana* fueron desinfectados superficialmente y sembrados en medio MS modificado (macronutrientes al 50%) y suplementado con 10 g/L de sacarosa y 0.01 mg/L de ANA. De los brotes producidos por los explantes nodales se tomaron las hojas cuyo área foliar fue aproximadamente de 0.5 cm² y fueron sembradas en medio MS suplementado con 30 g/L de sacarosa y diferentes concentraciones y combinaciones de BAP y ANA (0.0-3.0 mg/L). Los medios fueron enriquecidos con carbón activado (0.5 g/L), ó ácido ascórbico (50 mg/L) y ácido cítrico (100 mg/L). Los cultivos fueron incubados bajo un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad y en oscuridad continua a 25°C ± 2°C.

Resultados y discusión. Los brotes se formaron a los 20 días de cultivo, obteniéndose hasta 8.2 ± 0.56 brotes por explante (Fig. 1a). La respuesta morfogénica a la presencia de BAP y ANA fue la formación de callo en los explantes foliares, iniciándose la respuesta en el haz de la hoja en la región más cercana al pecíolo, para posteriormente formarse a lo largo de todo el explante. El factor incubación jugó un papel importante en el tiempo y cantidad en que se produjo el callo. Los cultivos incubados bajo un fotoperiodo formaron el callo en menor tiempo y la producción de callo se duplicó con respecto a los explantes incubados en oscuridad continua. En ausencia de compuestos

antioxidantes fue evidente la oxidación del explante. La adición de ácido cítrico y ácido ascórbico en el medio de cultivo evitó la oxidación del explante y del callo producido, pero retrasó la respuesta, iniciándose hasta el mes de la siembra del explante. La adición de carbón activado evitó la oxidación y la respuesta se inició entre la primer y segunda semana de cultivo, al igual que en los explantes sin antioxidantes. La auxina (ANA) empleada en las distintas concentraciones de manera individual no tuvo ningún efecto morfogénico en los explantes foliares de *S. rebaudiana*. Al combinar la auxina con la citocinina se indujo la formación de callo, el tratamiento con mayor producción de callo fue 2.0 mg/L de BAP y 2.0 mg/L de ANA (Fig. 1b).

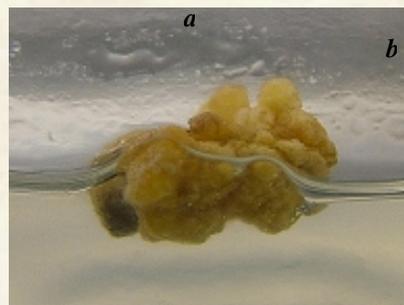


Figura 1. Cultivo *in vitro* de *S. rebaudiana*. a) Brotes en explante nodal; (b) Callo obtenido en presencia de BAP y ANA.

Conclusiones. La formación de callo se llevó a cabo en explantes foliares de *S. rebaudiana*, inducida por el efecto conjunto de BAP Y ANA. Es necesario continuar estas investigaciones para seleccionar una línea celular productora o, en el mejor de los casos, sobreproductora de esteviolglucósidos para establecer cultivos en suspensión. La técnica de cultivo de tejidos vegetales es una herramienta biotecnológica que ofrece la posibilidad de obtener metabolitos secundarios económicamente importantes, como los son los glucósidos de *S. rebaudiana*.

Bibliografía.

1. Kinghorn A. & Soejarto D. (1986). Sweetening agents of plant origin. *Crit. Rev. Plant Sci.* 4: 79-120.
2. Bondarev N., Reshetnyak O. & Nosov A. (2001). Peculiarities of diterpenoid steviol glycoside production in *in vitro* cultures of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Sci.* 161: 155-163.
3. Ferreira C. & Handro W. (1988). Micropropagation of *Stevia rebaudiana* through leaf explants from adult plants. *Planta medica* 54(2): 157-160.