



INDUCCIÓN DE CALLO EN LA PLANTA *Stevia rebaudiana* (BERTONI) HEMSL. PRODUCTORA DE EDULCORANTES

Claudia Oriza, Leticia Buendía, Juan Orozco, J. Ángel Lechuga, Francisco Cruz
Dpto. de Biotecnología, UAM-Iztapalapa San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina 09340 México, D.F. Fax (5)
8044712, e-mail: lety_sax@yahoo.com.mx

Palabras clave: Stevia rebaudiana, edulcorantes, callogénesis

Introducción. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsl. es miembro de la familia Asteraceae, hierba perenne originaria del noroeste de Paraguay y del sureste de Brasil. *Stevia* contiene una serie de glucósidos, los cuales tienen un poder edulcorante de 100 a 400 veces 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 atractivo. 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 glucósidos (3). El cultivo de tejidos vegetales es una valiosa alternativa para la obtención de metabolitos secundarios de interés como son los esteviolglucósidos.

El presente trabajo pretende establecer las condiciones experimentales para inducir la formación de callo en explantes nodales y foliares de *S. rebaudiana* con potencial edulcorante.

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. Las hojas y segmentos de tallo fueron usados para iniciar el cultivo de callo, sembrados 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 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 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

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 morfológica 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 toda la lámina foliar (Fig. 1b), y en los explantes nodales la formación de brotes y callo, los brotes se produjeron en el nodo y el callo a lo largo de todo el tallo, principalmente en la superficie que se encontraba en contacto con el medio de inducción (Fig. 1c). 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 de los explantes. 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 cultivo. El explante que favoreció una mayor producción de callo fue la lámina foliar. La auxina (ANA) empleada en las distintas concentraciones de manera individual no tuvo ningún efecto morfológico en los explantes nodales y 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.

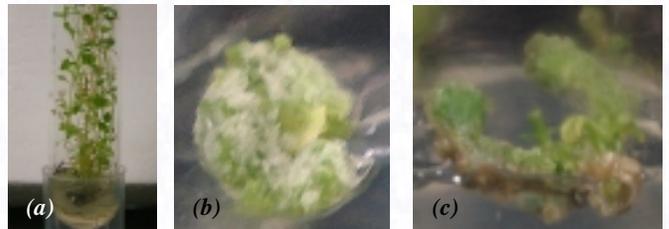


Figura 1. (a) Cultivo *in vitro* de *S. rebaudiana* con 0.01 mg/L de ANA; (b) Callo en explante foliar; (c) Callo y brotes en explante nodal; ambos explantes sembrados en medio MS suplementado con 2.0 mg/L de BAP y 2.0 mg/L de ANA.

Conclusiones. La formación de callo se llevó a cabo en explantes foliares y nodales de *S. rebaudiana*, inducida por el efecto conjunto de BAP y ANA. Es necesario continuar estas investigaciones para seleccionar una línea celular productora 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.