



EVALUACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA LA MICROPROPAGACIÓN DE *Castilleja tenuiflora* Benth. (hierba del cáncer) A PARTIR DE MERISTEMOS

Guadalupe Salcedo Morales, Gabriel Rosas Romero y Gabriela Trejo Tapia.
Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos.
México. C. P. 62731. (735) 3941896. Fax: (735) 3942020. gttapia@ipn.mx.

Palabras clave: *Castilleja tenuiflora*, meristemos, micropropagación.

Introducción. *Castilleja tenuiflora* (Scrophulariaceae, “hierba del cáncer”) es una especie vegetal atractiva porque acumula iridoides glicosilados (1), compuestos de importancia farmacológica por su actividad anticancerígena e inmunoestimulante (2). Para el aprovechamiento tradicional de esta especie silvestre se recolecta de forma no sustentable y las poblaciones naturales están disminuyendo. Resulta importante buscar alternativas para su propagación y eventual producción de los principios activos. Previamente, se ha tratado de propagar por semillas. Sin embargo, la germinación fue menor al 50% y las plántulas no alcanzaron más de 2 cm de altura después de 2 meses (3). El cultivo de meristemos es una metodología útil para obtener plantas libres de patógenos y micropropagar *in vitro* especies recalcitrantes.

El objetivo de este trabajo fue evaluar un protocolo para la brotación múltiple y la obtención de plántulas de *C. tenuiflora* a partir de meristemos.

Metodología. Se utilizaron plantas silvestres colectadas en Juchitepec (Edo. de México) en diciembre de 2006. El primer paso fue desinfectar las yemas; se lavaron con una solución de detergente seguido NaOCl 1% por 5 min. Posteriormente, se sumergió en etanol 70% (v/v) por 2 min y por último, en fungicida benomilo (0.1 g/100 mL). Debido a que el meristemo era muy pequeño (0.4-0.5 mm aprox), se removieron las hojas largas para aislar las yemas apicales, las cuales se colocaron en medio de cultivo especial para meristemos (MCI). Este medio consistió en MS con sacarosa (30 g/L), tiamina (0.9 mg/L), ácido fólico (0.5 mg/L), biotina (0.05 mg/L), BAP (0.2 mg/L) y ANA (0.1 mg/L) (4). Se colocó 1 meristemo por frasco (n=30) y el experimento se repitió en dos ocasiones. Se realizaron observaciones periódicas y se determinó el porcentaje de brotes y plántulas formadas.

Resultados y discusión. A los 30 días de sembrar las yemas apicales en MCI se formaron brotes, en una proporción del 33 %. También se obtuvieron plántulas completas (Fig. 1A). Para convertir los brotes a plántulas, se transfirieron a medio de cultivo con IBA (0.1 mg/L) y BAP (0.25 mg/L). El cambio fue favorable ya que se obtuvieron 4 plántulas/brote. Sin embargo, estas plantas mostraron un aspecto vitrificado y de fragilidad.

Para inducir la formación de raíz y reducir la fragilidad de las plántulas, se transfirieron a medio de cultivo únicamente con IBA (1.0 mg/L). Se eliminó la vitrificación, las plántulas desarrollaron una gran cantidad de raíz y fueron más fuertes (Fig. 1B). Este resultado es importante ya que las posibilidades de sobre vivencia de plántulas en la etapa de aclimatación y crecimiento en vivero aumentan cuando las raíces se han desarrollado adecuadamente.

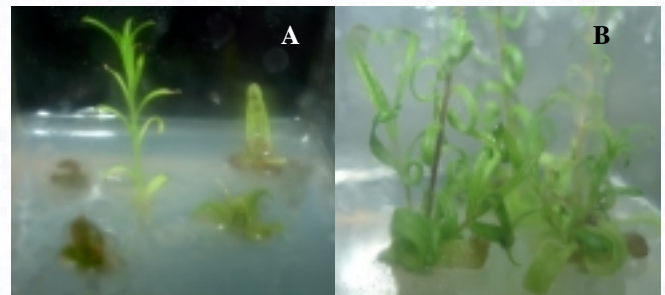


Figura 1. Brotes y plántulas obtenidos a partir de meristemos de *Castilleja tenuiflora*.

Conclusiones. El cultivo de meristemos de *Castilleja tenuiflora* es una alternativa para la micropropagación de esta especie silvestre.

Agradecimientos. El trabajo fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN (SIP20070118). G. Rosas es becario CONACYT (199411) y PIFI-IPN. G. Salcedo y G. Trejo son becarios COFAA y EDI (IPN).

Bibliografía.

- Jiménez, M. E., Padilla, M. E., Reyes, Ch. R., Espinosa, L. M., Melendez, E., Lira Rocha, A. (1995). Iridoid glycoside constituents of *Castilleja tenuiflora*. *Biochem system. Ecol.* 23: 455-456.
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Ayuso, M. J. (2005). Iridoids as DNA topoisomerase I poisons. *J.Enz Inhib Med Chem.*20: 389-392.
- Rosas, G., Bermúdez, K., Rodríguez, M., Trejo, G. (2006). Inducción de morfogénesis y callogénesis a partir de hojas de plantas adultas de *Castilleja tenuiflora* Benth. *Memorias del V Encuentro de la Red de Biotecnología del IPN.* IPN. México, D. F.
- Martínez, P., Hernández, M. y Salcedo, M. G. (2005). El cultivo de meristemos como una alternativa para la micropropagación de plantas de Cempaxúchil (*Tagetes erecta* L. var. *Snowdrif* y *Nana*). *Memorias del XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.* SMBB. Mérida, Yucatán. 18- 23 septiembre 2005.