



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS IN VITRO DE RAÍCES DE *Jacobina spicigera* Y ANÁLISIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Silvia E. Loredo Carrillo y María del Socorro Santos Díaz. CIEP de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.
Manuel Nava 6, CP 78210, Tel (444) 8262440, Fax (444) 8262372, San Luis Potosí. México.
qfbselec@yahoo.com.mx; ssantos@uaslp.mx.

Introducción. Las raíces sintetizan, acumulan y secretan una gran variedad de compuestos, además de proporcionar soporte mecánico y permitir la captación de agua y nutrientes de suelo. Se conoce que la actividad biosintética de las raíces también se mantiene en cultivos *in vitro*. La planta *Jacobina spicigera* se utiliza en el tratamiento de la sintomatología del climaterio. El análisis fitoquímico de las hojas indicó que contiene flavonoides, β -sistosterol y kampesterol (1). Sin embargo, no parece haber estudios fitoquímicos de los compuestos producidos por las raíces. Por ello, el objetivo de este trabajo fue establecer las condiciones para cultivar *in vitro* raíces de *J. spicigera* y determinar si conservan su capacidad para sintetizar metabolitos secundarios, particularmente compuestos con actividad estrogénica.

Metodología. Se separaron las raíces de plantas adultas de *J. spicigera* y se lavaron con agua y detergente por 1 día; se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 20%-Tween 20 al 0.1 %, etanol al 70% y 10 ml/L de Plant Preservative Mixture (PPM). Las raíces se cultivaron en medio MS conteniendo 1, 2 o 3 mg/L de ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) o ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). Se probaron medios con el doble de la concentración de vitaminas, mayor contenido de sacarosa (40 g/L) o KNO_3 (2.5 g/L). Adicionalmente las raíces se cultivaron en medio WPM (Woody Plant Media) adicionado con 2 mg/L de las auxinas antes mencionadas. Para realizar las curvas de crecimiento se usó un inóculo de 0.2 g de peso fresco y se determinó el incremento en peso a los 0, 3, 6, 9, 12 y 15 días. Se obtuvieron los extractos alcohólicos y clorofórmicos y en ellos se cuantificaron los niveles de esteroides y flavonoides. La identificación de los esteroides se hizo con la prueba de Lieberman Buchard y la de los flavonoides con la de Brontranger. La cuantificación de los esteroides se realizó de acuerdo al método descrito por la AOAC 1970 (2) y la de flavonoides usando el método de la Farmacopea alemana (3).

Resultados y discusión. El primer paso para el establecimiento de los cultivos *in vitro* es la asepsia del material. Debido a que las raíces venían muy contaminadas fue necesario lavarlas durante 3 días con agua jabonosa e incluir un tratamiento con H_2O_2 al 3%. Con estas modificaciones se logró un 0 % de contaminación y no se afectó la morfología de las raíces. El crecimiento de las raíces en medio MS fue muy lento por lo que se incrementaron las concentraciones de vitaminas, KNO_3 y sacarosa. El aumento de los nutrientes en el medio no generó un mayor crecimiento radicular. Por ello, las raíces se cultivaron en medio WPM adicionado con 2 mg/L de 2,4-D.

Este medio se ha usado con éxito en la propagación de plantas leñosas. Los cultivos de raíces presentaron un crecimiento exponencial en medio WPM, alcanzando la fase de crecimiento estacionaria al 3er. día y la fase estacionaria al 6º día (Figura 1).

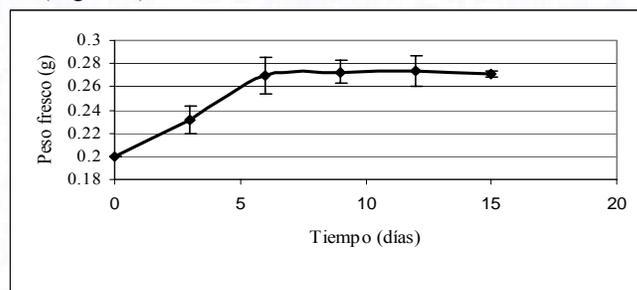


Figura 1. Curva de crecimiento de raíces de *J. spicigera* en medio WPM con 2 mg L^{-1} de 2,4-D

El análisis cualitativo de los extractos indicó que las raíces cultivadas *in vitro* son metabólicamente activas ya que sintetizaron esteroides y flavonoides. En contraste, las raíces de la planta solo producen esteroides (Cuadro 1). Los niveles de esteroides en los cultivos *in vitro* fueron ligeramente mayores a los obtenidos en la hoja y esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Aunque los niveles de flavonoides fueron bajos en los cultivos *in vitro* de raíces, los resultados indican que son capaces de producir metabolitos que no están presentes en las raíces de la planta.

Cuadro 1. Contenido de esteroides y flavonoides en raíz y hoja de *J. spicigera*

Tejido	Flavonoides (mg/L)	Esteroides (mg0/L)
Hoja	0.42 ± 0.01	0.78 ± 0.01
Raíz planta	0.00 ± 0.0	0.89 ± 0.006
Raíces <i>in vitro</i>	0.15 ± 0.002	0.84 ± 0.01

Conclusiones.

Se lograron establecer cultivos *in vitro* de raíces de *J. spicigera* de rápido crecimiento en medio WP. Los cultivos fueron capaces de sintetizar esteroides y flavonoides. Estos cultivos podrían ser una fuente alternativa de fitoestrógenos en el futuro.

Bibliografía

- Saldaña V., Aguilera J. Estudio Fitoquímico Biorregulado de la parte Aérea de *J. spicigera* (1992). Tesis de Licenciatura UNAM. 29-41pp.
- AOAC 1970. Official Methods of analyses. Association of Analytical Chemists Washington, DC 1025 pp.
- Franz G., Koehler H (1992) *Drogen und Naturstoffe. Grundlagen und Praxis der Chemischen Analyse*. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 308 pp.