



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS *IN VITRO* DE CALLOS, BROTES Y RAÍCES DE *Castilleja tenuiflora* Benth. “HIERBA DEL CÁNCER”

Gabriel Rosas¹, Kalina Bermúdez¹, Mario Rodríguez¹, Alejandro Zamilpa² y Gabriela Trejo¹

¹Departamento de Biotecnología. CEPROBI-IPN. km 8.5 Carretera Yautepec-Jojutla. San Isidro. Yautepec, Morelos, México. C. P. 62731. Tel: (735) 3942020. Fájx: (735) 3941896. ²CIBIS-IMSS. gttapia@ipn.mx.

Palabras clave: callogénesis, *Castilleja*, organogénesis.

Introducción. *Castilleja tenuiflora* Benth. (Familia Scrophulariaceae) es una planta mexicana medicinal, utilizada tradicionalmente para tratar el cáncer. Esta especie se conoce comúnmente como “hierba del cáncer”. En la parte aérea de *C. tenuiflora* se identificaron iridoides glicosilados (1). Algunos compuestos de este tipo han demostrado actividad antitumoral e inmunestimulante (2,3). Esta especie es demandada y recolectada de manera no sostenible para su comercialización, provocando que sus poblaciones estén amenazadas. El cultivo *in vitro* de *C. tenuiflora* es una alternativa biotecnológica que permite micropropagar esta especie y producir los iridoides glicosilados bioactivos.

El objetivo de este trabajo fue obtener cultivos *in vitro* de callos, brotes y raíces a partir de plantas silvestres de *C. tenuiflora*.

Metodología. Se colectaron plantas silvestres de *C. tenuiflora* en Juchitepec, Edo. de México en julio-agosto de 2006. Las hojas se desinfectaron con detergente, tween 80 0.01%, NaOCl 1%, etanol 70%, y benomilo 0.001 g/ml; se inocularon en medio MS con 3% de sacarosa y 10 μ M de ácido α -naftalenacético (ANA) (4). Se hicieron observaciones periódicas para identificar la formación de callos, raíces y brotes. Estas estructuras fueron transferidas a medio de cultivo fresco para establecer los diferentes cultivos *in vitro*. Todos los cultivos se incubaron en fotoperiodo de 16 h luz (150-200 μ mol/m²s) y 25 \pm 2 C°.

Resultados y discusión. A partir de explantes de hoja se formaron callos (Fig. 1A) a las 2 semanas (20% inducción). Los callos se resebraron por 7 ciclos (20 días c/u).

A las 2 semanas, en los callos se formaron raíces blancas (100% inducción), posiblemente vía indirecta; a las 4 semanas se observaron raíces verdes (100% inducción) (Fig. 1B). Ambos tipos de raíces se transfirieron a medio MS líquido sin fitorreguladores y presentaron crecimiento (Fig. 1C); se subcultivaron por 6 ciclos (20 días c/u). Las raíces verdes en medio líquido formaron brotes (Fig. 1D) a las 4 semanas (100% conversión), los cuales se aislaron y se mantuvieron por 2 ciclos (20 días c/u) en medio líquido. Segmentos de estos brotes, incluyendo hoja e internodo, se sembraron en medio MS semisólido sin fitorreguladores y después de 4 semanas se obtuvieron plántulas (100% conversión) (Fig. 1E-F).

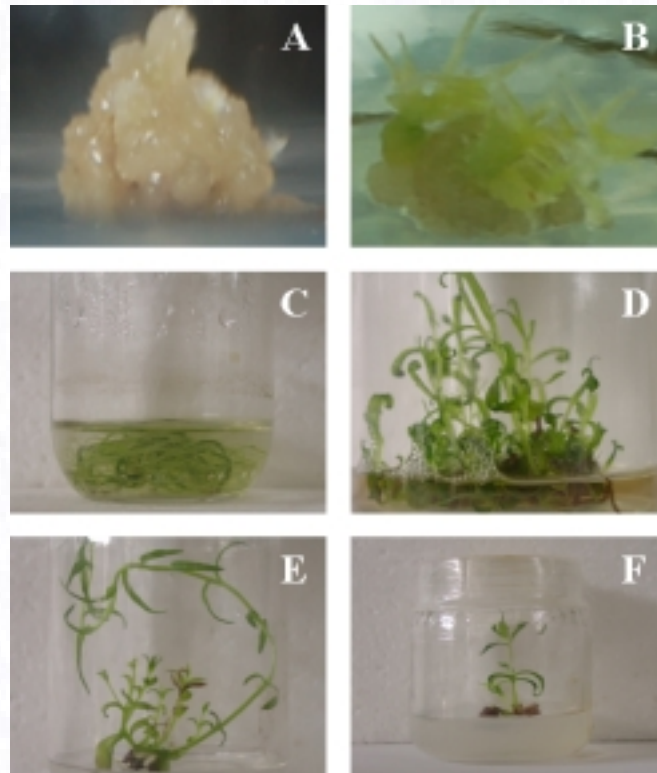


Figura 1. Cultivo *in vitro* de *C. tenuiflora*. **A** Callo. **B** Callo y raíz. **C** Raíces y **D** Brotes en medio líquido. **E-F** Plántulas.

Conclusiones. A partir de las hojas de plantas silvestres de *C. tenuiflora* fue posible establecer el cultivo *in vitro* de callos, brotes y raíces.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el IPN (SIP 20070118). G. Rosas es becario CONACYT (Registro 199411).

Bibliografía.

1. Jiménez, M; Padilla, M; Reyes, R; Espinosa, L.; Melendez, E; Rocha, A. (1995). Iridoid glycoside constituents of *Castilleja tenuiflora*. *Biochem. Syst. Ecol.* 23:455-456.
2. Takao, K; Midori, T; Harukuni, T; Hoyoku, N. (2000). Cancer chemopreventive activity of an iridoid glycoside, 8-acetylharpagide from *Ajuga decumbens*. *Cancer Lett.* 157:87-92.
3. Vijayavithal, T; Mathad, R; Amiya, B; Ragini, S; Anju, P; Lalit, T; Vishwa, S. (1998). Studies on the profile of immunostimulant activities of modified iridoid glycosides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 6:605-611.
4. 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. México, D. F.