



OBTENCIÓN DE CULTIVOS *IN VITRO* DE LA PLANTA ANTI-INFLAMATORIA *Sphaeralcea angustifolia* (Malvaceae) (Cav.) G. Don

Juanita Pérez-Hernández¹, María del Pilar Nicasio-Torres². Facultad de Ciencias Biológicas, UAEM¹. Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social². Argentina No. 1 Centro, 62790 Xochitepec, Morelos. kika_juanita@yahoo.com.mx, pisoliva@yahoo.com.mx

Palabras clave: anti-inflamatoria, fenoles, hierba de vara de San José, *Sphaeralcea angustifolia*.

Introducción. La especie medicinal *Sphaeralcea angustifolia* es una planta herbácea perenne de amplia distribución en la zona norte y centro de México. Las hojas se usan machacadas con gotas de aceite y se frotran sobre el área afectada por un golpe, quebradura o torcedura (1). Los estudios farmacológicos han demostrado que el extracto clorofórmico de hojas de *S. angustifolia*, disminuyeron en un 78% el edema subplantar inducido con carragenina en ratas, lo cual corrobora el efecto anti-inflamatorio atribuido a la especie. Dicho efecto podría ser atribuido a los compuestos fenólicos escopoletina, esculetina, quercetina, esculina y ácido caféico obtenidos de la parte aérea de la planta silvestre (2-3).

Objetivo. Establecer las condiciones *in vitro* para la obtención de cultivos de tejidos desdiferenciados y plántulas de la especie medicinal *S. angustifolia*.

Métodología. Hojas jóvenes de *S. angustifolia* se desinfectaron sumergidas en soluciones de agua jabonosa, etanol e NaClO con tween-20, bactericida (agrimicina) y funguicida (ridomil). Las hojas se cortaron en segmentos de 5 mm² y se transfirieron al medio de Murashige y Skoog (MS) al 50%, complementado con 15 g/l de sacarosa, 3 mg/l de fitagel, 500 mg/l de cloranfenicol y 1 mg/l de amfotericin B a pH 5.7 por una semana. Los explantes se transfirieron a diferentes tratamientos hormonales para inducir calogénesis: 0.5, 1 y 2 mg/l de ácido naftalenacético (ANA) en combinación con 0.1 mg/l de cinetina y para la inducción a brotación múltiple: 1, 2, 3, 4 y 5 mg/l de CN en combinación con 0.1 g/l de ácido indolacético (AIA). El medio de cultivo utilizado fue el MS complementado con 30 g/l de sacarosa, 3 g/l de fitagel y 1g/l de PVP. Los explantes fueron incubados a 26±2 °C y fotoperíodo de 16 h luz por 8 de oscuridad y subcultivados cada 4 semanas, tiempo al cual se evaluó la respuesta a calogénesis y brotación múltiple.

Resultados y Discusión. Se logró establecer un cultivo aséptico a partir de explantes de hoja joven de *S. angustifolia*, los cuales respondieron al proceso de calogénesis utilizando cualquier concentración de ANA. Las biomásas desarrolladas presentaron una textura dura al inicio (1-4 subcultivo) y se tornaron friables y muy hidratados con los subsecuentes subcultivos. En los callos se observó la formación de brotes de *novo* vía

organogénesis indirecta al utilizar las diferentes concentraciones de ANA; sin embargo, al exponer los explantes a los tratamientos de brotación múltiple se originó tejido desdiferenciado cuya friabilidad se incrementó con los subcultivos, y posteriormente la formación de brotes. Al utilizar las diferentes concentraciones de ANA el porcentaje de regeneración de brotes aumentó conforme se incrementó el número de subcultivos (69, 52 y 64% subcultivo 7); lo contrario ocurrió al utilizar las concentraciones más altas de CN (3, 4 y 5 mg/l), los porcentajes de regeneración más altos se obtuvieron al 5 subcultivo (25, 30 y 35%), reduciéndose la respuesta morfogénica (3, 7 y 12%) al subcultivo 7. El proceso de rediferenciación de los callos se corroboró por medio de análisis histológicos, observando la presencia de tejido mesofílico al inicio seguido por la formación de tejido vascular (traqueadas) y finalmente la presencia de tejido meristemático.

Conclusiones. Se logró establecer 8 líneas de tejido desdiferenciado. A partir de los cultivos callogénicos derivados con la auxina ANA, en cualquiera de las concentraciones utilizadas, así como los derivados con las concentraciones más altas de CN se obtuvo la regeneración de plantas de *S. angustifolia* por la obtención de brotes adventicios vía organogénesis indirecta. *S. angustifolia* es una planta medicinal con un gran potencial para su manejo biotecnológico, en virtud de tener células somáticas capaces de regenerar una planta reduciendo el riesgo de depredación de su hábitat natural. Por lo tanto, los cultivos de callos pueden ser una alternativa viable tanto para la multiplicación de la especie *in vitro*, como para el establecimiento de células en suspensión para la producción de metabolitos secundarios de interés.

Bibliografía.

1. Argueta V. A., Cano L. y Rodarte M. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Vol. I, II y III. Instituto Nacional Indigenista pág 86,141, 267, 420.
2. Meckes M., Rivera D., Nava-Aguilar V. y Jiménez A. 2004. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine* 11(5): 446-41.
3. Olivares E., Meckes M., García R. y Jiménez. A. 2005. *Memorias Merida 2005*. Coordinación de investigación en salud. IMSS. Mérida, Yucatán. 178.