

“ESTABLECIMIENTO DE RAÍCES TRANSFORMADAS DE *Solanum chrysotrichum* PARA LA PRODUCCIÓN DE SAPONINAS ANTIFÚNGICAS”

Iris Nieto¹, Jesús Arellano², Laura Alvarez³ Alejandro Zamilpa⁴ y Ma. Luisa Villarreal¹. ¹ Centro de Investigación en Biotecnología Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad 1001. Colonia Chamilpa. C.P.62210. E:mail: iris_nieto@hotmail.com ²Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. UNAM. ³Centro de Investigación en Ciencias Químicas. UAEM ⁴Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS

Palabras clave: *Solanum chrysotrichum*, raíces transformadas, saponinas antifúngicas

Introducción. La especie vegetal *Solanum chrysotrichum* originaria del Estado de Chiapas, ha sido estudiada científicamente con el fin de corroborar las propiedades antifúngicas que se le han atribuido en forma popular. A la fecha se han identificado 6 saponinas SC-1-SC-6 y 2 glicósidos esteroidales en los extractos orgánicos de hojas de esta planta, mismas que son responsables de la actividad contra dermatofitos humanos (1,4). Existe la necesidad de aumentar la producción *in vitro* de las saponinas bioactivas de *S. chrysotrichum*, para lograr un proceso económicamente redituable. Una estrategia que actualmente se utiliza con este fin, es el empleo de cultivos de raíces transformadas con *Rhizobium rhizogenes*. En este trabajo se reporta la obtención y el establecimiento de raíces transformadas de *S. chrysotrichum* utilizando dos cepas de *R. rhizogenes*, con el propósito de incrementar la acumulación de saponinas bioactivas con respecto a cultivos en suspensión

Metodología. Plántulas de *S. chrysotrichum* fueron propagadas de acuerdo a una técnica previamente descrita (1). Para la obtención de raíces transformadas se utilizó el método de infección basal de segmentos nodales (2), los cuales fueron infectados con dos cepas de *R. rhizogenes*: A4/pRi4/pESC4 y C58C1/pRi15834. La evaluación de la transferencia del TADN fue corroborada por análisis de PCR, utilizando el gen *rolA* de *R. rhizogenes*, y los oligonucleótidos ROLA1 5' GCC TGC TTT TAC TGT TGC CT y ROLA2 3' CAC GAC ATT ACA CAA ACG CT (3), usando como templado el ADN total extraído de las raíces de *S. chrysotrichum* que fueron infectadas con A4, el fragmento del gen *rolA* que se esperaba es de 636 pb. Los productos del PCR se observaron en un gel de agarosa al 1.2%. Las saponinas bioactivas se identificaron y cuantificaron por CLAE

Resultados y discusión. La transformación genética de plántulas de *S. chrysotrichum* se logró con ambas cepas de *R. rhizogenes*. Se obtuvo un fenotipo característico “hairy roots”, las cuales se crecieron sin adición de hormonas en medio líquido B5 con sacarosa al 30%; se seleccionaron las de mejor crecimiento y, se subcultivaron hasta obtener

biomasas abundantes. Se cultivaron raíces no infectadas como control. De los cultivos de raíces transformadas se hizo una selección para evaluar los parámetros cinéticos y la transformación genética por PCR, comprobándose la transformación sólo en la línea que fue infectada con la cepa A4. La identificación y cuantificación de las saponinas bioactivas en este material indicó la producción de 5 saponinas SC-2-SC-6 y dos glicósidos IIIOA y IIIOB con un perfil similar a las hojas de las plantas silvestres de esta especie (4).

Conclusiones. Se establecieron por primera vez cultivos de raíces de *S. chrysotrichum* infectadas con las cepas A4 y C58 de *Rhizobium rhizogenes*. Se demostró la transformación genética en la línea NSC-431 obtenida con la cepa A4. El cultivo alcanzó la fase estacionaria después de los 15 días. Los tiempos de duplicación basados en los pesos seco y fresco de estos cultivos fueron de 4.19 días. La máxima biomasa que se alcanzó fue 4.98 g PS l⁻¹ a los 21 días, que corresponde a un incremento 2 veces superior al inóculo inicial. Las saponinas más abundantes fueron SC-5 y SC-6 y las menos SC-2, SC-3 y SC-4.

Agradecimientos.

A CONACYT por el apoyo en este proyecto de investigación con número de registro 141627.

Bibliografía.

- 1.- Villarreal, M. *et al.*, 1997. “Cell suspension culture of *S. chrysotrichum* (Schdl)- A plant producing an antifungal spirostanol saponin”. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 50: 39-44.
- 2.- Arellano J. *et al.*, 1999. “Genetic transformation of *perezia species*” *Biotech in Agric and Forestry*. 45: 215-221.
- 3.- Anis M. *et al.*, 1998. “Natural genetic transformation by *Agrobacterium rhizogenes*”. *Plant Physiology*. 118: 543-550.
- 4.- Zamilpa A. *et al.*, 2002. “Five new steroidal saponins from *S. chrysotrichum* leaves and their antimycotic activity”. *J. Nat.Prod.* 65-1815-1819.