



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES PARA EL ESTABLECIMIENTO DE CALLOS DE *Opuntia robusta* (H.L WENDL) Y ANÁLISIS DE FENOLES Y FLAVONOIDES

Marissa Robles Martínez y María del Socorro Santos Díaz

CIEP-Facultad de Ciencias Químicas, UASLP. Manuel Nava 6, 78210, San Luis Potosí, México.

Correo electrónico: sekmeth_mrm87@hotmail.com ; ssantos@uaslp.mx

Palabras clave: *Opuntia robusta*, callos, fenoles

Introducción

Opuntia robusta es una especie silvestre de nopal, la cual debe contener una gran variedad de metabolitos que le permiten adaptarse a las condiciones ambientales adversas. Entre los metabolitos de importancia biológica se encuentran los fenoles y flavonoides con propiedades antioxidantes (1). Una alternativa para obtener metabolitos en condiciones controladas es el cultivo *in vitro*. En estudios previos del laboratorio (2) se logró la inducción de callo pero el crecimiento de este fue lento y además se presentó oxidación. Por ello, el objetivo de este trabajo fue optimizar de las condiciones de las condiciones de cultivo y determinar su contenido de compuestos fenólicos.

Metodología

A los cladodios maduros de *O. robusta*, se lavaron con jabón antibacterial. Enseguida se sumergieron en una solución biocida por 36 h, en hipoclorito de calcio al 10% y 8% y en etanol al 70%. El tejido aséptico se colocó en medio de Murashige y Skoog (MS) adicionado con ácido indol-3-acético (17.2 µM), picloram (4.96 µM), cinetina (5.58 µM), carbón activado (10 g/L), polivinil pirrolidona (3 g/L), pH 5.7 para la inducción de tejido calloso. A este medio se le denominó medio 1. Para incrementar el crecimiento se probó el efecto de: a) fuente de nitrógeno (urea 0.02 g/L y/o hidrolizado de caseína 0.4 g/L); y b) vitaminas (vitamina B12 0.0468 g, y/o ácido fólico 0.05 mg/L). También se evaluó el efecto de la ventilación de los cultivos al usar frascos con tapón de corcho (TC). Los callos se resebraron cada 3 semanas. La formación de callo (tipo 1, 2 y 3) se evaluó cada semana.

Resultados

Se obtuvo mayor formación de callo tipo 2 en medio con HC en comparación al que contenía urea y al control (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de la fuente de nitrógeno en la inducción de callo de *O. robusta*

Medio	Callo (%)		Oxidación (%)		
	1	2	1	2	3
M-1	100	0	100	0	0
M-1 (TC)	71	29	14	0	0
M-1 + urea	72	28	90	10	0
M-1 + urea (TC)	50	35	21	0	0
M-1 + hidrolizado de caseína	77	23	55	8	33
M-1 + hidrolizado de caseína (TC)	51	49	6	0	0
M-1 + hidrolizado de caseína + urea	43	57	50	40	10
M-1 + hidrolizado de caseína + urea (TC)	58	33	8	16	0

En relación a las vitaminas se generó 16% y 35% de callo tipo 3 en los medios con vitamina B12 y ácido fólico respectivamente (Cuadro 2). Los resultados de los Cuadros 1 y 2 también mostraron que la oxidación del explante se reduce cuando se incrementa la ventilación a través del uso de tapas con tapones de corcho. El aspecto de los callos se muestra en la Figura 1.

Cuadro 2. Efecto de las vitaminas en la inducción de callo de *O. robusta*

Medio	Callo (%)			Oxidación (%)	
	1	2	3	1	2
M-1	100	0	0	100	0
M-1 (TC)	71	29	0	14	0
M-1 + B12	67	33	0	90	10
M-1 + B12 (TC)	33	33	16	0	0
M-1 + ac. fólico	60	40	0	56	44
M-1 + ac. fólico (TC)	21	42	35	0	0
M-1 + ac. fólico +B12	45	55	0	80	20
M-1 + ac. fólico +B12 (TC)	75	25	0	30	70

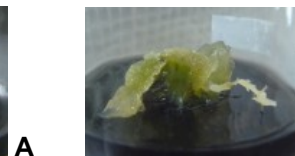


Figura 1. Callos mantenidos en medios con A) Ácido fólico y B) hidrolizado de caseína

De acuerdo con las curvas de calibración de ácido gálico y quercetina, el contenido de fenoles totales en la penca de *O. robusta* fue de 4.19 mg EAG/g y de flavonoides de 5.14 mg EQ/g.

Conclusiones.

Se optimizó el protocolo de asepsia obteniendo un 75% de explantes viables. El hidrolizado de caseína fue la mejor fuente de nitrógeno. La adición de vitaminas promovió la formación de callo tipo 3. La ventilación de los frascos de cultivo promovió una reducción en la oxidación de los explantes.

Bibliografía

- Ahmed MS, El-Tanbouly ND, Islam WT, Sleem AA and El-Senousy AS. 2005. Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. Flowers growing in Egypt. *Phytother. Res* 19:807-809.
- Astello-García M. 2009. Establecimiento de cultivos *in vitro* de *Opuntia robusta* y *Opuntia streptacanta* y análisis del contenido de fenoles y flavonoides. Tesis de Maestría, CIEP, UASLP.