



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS CELULARES DE *Lavandula angustifolia* Miller

Berenice Guadarrama-Flores, Leticia Buendía-González, M. Elena Estrada-Zúñiga, Juan Orozco-Villafuerte, Francisco Cruz-Sosa. Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco N° 186, Col. Vicentina C.P. 09340, Iztapalapa, México D.F.; Tel. 01(55)58044714. E-mail: andromeda_222001@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Lavandula angustifolia*, linalool y acetato de linalool

Introducción. *Lavandula angustifolia* Miller, es una herbácea que produce metabolitos secundarios de gran importancia por su amplia aplicación en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Debido a la alta demanda de linalool y acetato de linalool como constituyentes principales del aceite de lavanda, al año se reservan amplias extensiones de tierra para cultivar dicha planta. No obstante se obtienen rendimientos muy bajos, lo cual implica una pérdida importante de los recursos de producción y una sobreexplotación de la especie, ya que para extraer 9 litros de aceite esencial se necesita 1 tonelada de lavanda (1). Una alternativa viable es el Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV), que representa una herramienta potencial para la producción sustentable de metabolitos secundarios. Sin embargo, los reportes sobre CTV de lavanda se refieren principalmente a la producción de ácido rosmarínico. El objetivo del presente trabajo es establecer cultivos celulares de *Lavandula angustifolia* capaces de producir linalool y acetato de linalool.

Metodología. Explantes foliares inmaduros de *L. angustifolia* fueron esterilizados superficialmente en una solución jabonosa al 1% por 10 min, inmersión en EtOH 70% por 30s, inmersión en NaClO al 0.6, 1.2 y 1.8% + 0.2% Tween-20 por 10 y 15 min. Bajo condiciones asépticas, se llevaron a cabo 3 enjuagues con agua estéril. Los explantes fueron sembrados en MS (2) al 50 %, suplementado con 30 g/L de sacarosa, antioxidantes (ácidos ascórbico y cítrico, 150 y 100 mg/L, respectivamente) y diferentes reguladores del crecimiento vegetal (RCV): ANA ó 2,4-D (1.5 y 2.0 mg/L) y BAP (0, 1.5 y 2.0 mg/L) (B_xA_y ; B_xD_y , Tabla 1). Los medios fueron ajustados a pH 5.8 antes de ser autoclaveados. Los cultivos se incubaron bajo un fotoperíodo de 16 h luz ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Se seleccionaron los tratamientos con mayor porcentaje de inducción de callo friable o respuesta morfogenética para establecer la línea celular. Se subcultivó cada 30 d. Cada tratamiento consto de lotes de 5 tubos por triplicado. Los datos fueron expresados en $\bar{X} \pm \text{SD}$ y analizados por ANOVA y prueba de Tuckey con una $P < 0.05$.

Resultados y Discusión: Se estableció el cultivo aséptico de explantes foliares de *L. angustifolia* empleando NaClO al 1.8 % por 10 min. El tipo de RCV tuvo efecto sobre el tiempo, tipo y porcentaje de

inducción observada en los explantes de hoja (Tabla 1). Los tratamientos B_xA_y , indujeron raíz a los 45 d, en un 65.21 % (B_0A_{20} , Fig. 1A) y callo en un 100 % (B_xA_y restantes, Fig.1B). En los tratamientos B_xD_y se indujo callo (Fig. 1C) en porcentajes > 85 %. El callo proveniente de B_xA_y (Fig. 1B) fue observado a los 30 días, mientras que para B_xD_y el callo se formó en la totalidad del explante a los 45 días. El tratamiento B_0D_{15} se eligió para establecer la línea celular, al presentar altos porcentajes de inducción y mayor friabilidad o disgregabilidad (Fig. 1C). Los resultados muestran que la presencia de ANA 2.0 mg/L como único RCV favoreció la formación de raíz, mientras que 2,4-D a todas concentraciones probadas promovió la formación de callo. Lo anterior concuerda con los reportes en la literatura sobre la acción de las auxinas en diferentes vías de transducción de señales que involucran distintos receptores, afinidades diferenciales por el ligando (auxinas), afectando las relaciones dosis-respuesta (3).

Tabla 1. Porcentajes de inducción de *L. angustifolia* bajo tratamientos de RCV

BAP (mg/l)	ANA (mg/l)				2,4-D (mg/l)				
	1.5		2.0		1.5		2.0		
	TRAT.	%	TRAT.	%	TRAT.	%	TRAT.	%	
0	B_0A_{15}	0	B_0A_{20}	65	0	B_0D_{15}	87	B_0D_{20}	92
1.5	$B_{15}A_{15}$	100	$B_{15}A_{20}$	100	1.5	$B_{15}D_{15}$	100	$B_{15}D_{20}$	89
2.0	$B_{20}A_{15}$	100	$B_{20}A_{20}$	100	2.0	$B_{20}D_{15}$	100	$B_{20}D_{20}$	100



Fig. 1: Características fenotípicas de respuestas inducidas en explantes foliares de *L. angustifolia* bajo tratamientos de RCV. **A)** Raíz inducida bajo ANA 2.0 mg/l a los 45 d, **B:** Callo inducido bajo B_xA_y a los 30 d, **C:** Callo inducido bajo B_0D_{15} a 45 d.

Conclusiones: El tratamiento con 2,4-D 1.5 mg/L fue seleccionado para establecer una línea celular de lavanda por inducir un alto porcentaje (87%) de callo friable. Estos cultivos se están propagando para evaluar su producción de linalool y acetato de linalool.

Bibliografía

1. Basch E, Foppa I, Liebowitz R. (2004). *Lavender (Lavandula angustifolia* Miller). *J Herb Pharmacother* 4(2):63-78.
2. Murashige and Skoog (1962). *Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures*, *Plant Physiology* (1962), 15:473-497.
3. Sigal Savaldi-Goldstein, Thomas J. Baiga. (2008). *New auxin analogs with growth-promoting effects in intact plants reveal a chemical strategy to improve hormone delivery*. *PNAS*. 105: 39-42.