



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EFECTO DE LOS COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO EN EL DESARROLLO DE CALLOS DE *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers

Ma. de Lourdes Santos Díaz, María del Socorro Santos Díaz y Elisa Leyva Ramos, Centro de investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Manuel Nava 6, CP 78210, San Luis Potosí, México, correo electrónico ssantos@uaslp.mx

Palabras clave: cultivo *in vitro*, *Pyrostegia venusta*, callos

Introducción. *Pyrostegia venusta* se usa en medicina tradicional para tratar los síntomas causados por la menopausia. Sin embargo, deben tomarse alrededor de 2 litros de té diarios indicando que el principio activo presente en las hojas se encuentra en baja concentración (1). En estudios previos realizados en el laboratorio se obtuvieron callos de *P. venusta* los cuales tienen la capacidad para sintetizar flavonoides y fitoesteroles (2). Sin embargo, los callos obtenidos fueron duros y de lento crecimiento. Con la finalidad de obtener callos friables y de rápido crecimiento en este trabajo se estudió el efecto de: a) el explante (hojas, yemas), b) la combinación de auxinas naturales (ácido indol acético) y sintéticas (ácido 2,4-diclorofenoacético, picloram y c) de la adición de una fuente de nitrógeno orgánico (hidrolizado de caseína) sobre el desarrollo del callo.

Metodología. Como explantes se usaron tallos y yemas los cuales se lavaron con jabón antibacterial y se sumergieron en una solución biocida por 24 hrs. Luego se trataron con H₂O₂ al 10% por 10 minutos y en AgNO₃ por 10 minutos. Los explantes asépticos se cultivaron en medio de Murashige y Skoog (MS) conteniendo 1 mg/l de ácido indol acético (AIA), 3 g/L de polivinilpirrolidona, 0.05 mg/L de ácido fólico, 0.1 mg/L de vitamina B12 y 0.2 µM de biotina. A este medio se le denominó medio control. Para determinar el efecto de las auxinas los explantes se mantuvieron en el medio control adicionado con 1 mg/L de picloram (MS-PIC), 1 mg/L de dicamba (MS-DIC) o 1 mg/L de picloram en combinación con 1 mg/L de cinetina (PIC-CIN). Los cultivos se mantuvieron a 25 °C en condiciones de oscuridad. Para determinar el efecto de la fuente de nitrógeno el material vegetal se cultivó en medios adicionados 100 o 400 mg/L de hidrolizado de caseína y para analizar el efecto del cobre en medios con 0.05 mg/L de CuSO₄

Resultados. El protocolo de desinfección permitió obtener 62% de explantes asépticos. En relación al explante la yema indujo casi el doble de callo en relación al tallo pero la respuesta fue baja con (25% de explantes con callo). Al usar medios enriquecidos con HC se observó que los explantes tienden a oxidarse más en medios con 400 mg de HC que los mantenidos en 100 mg HC. Los callos mantenidos en éste último medio presentaron un aspecto más vigoroso, saludable y mayor friabilidad en relación al medio control. No se observaron

diferencias entre el medio MS y el B5 que contiene más vitaminas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Formación de callos en medios enriquecidos con hidrolizado de caseína a los 56 días

Medio	Hidrolizado caseína (mg/L)	Callo (%)	Oxidación		
			1	2	3
MS	100	22	44	44	11
	400	22	32	55	11
B5	100	22.2	33	55	11
	400	22	20	50	20

Aunque se logró incrementar el porcentaje de callo en medio con PIC-CIN (33%) la adición de cinetina promovió una alta oxidación ya que se presentó el oscurecimiento de los cultivos en el 44% de los explantes.

La adición de cobre tuvo un efecto benéfico en los tres medios probados ya que casi se duplicó la formación de callo en relación al experimento con HC. En el medio PIC-CIN-Cu se observó formación de callo en el 57% de los explantes pero la oxidación del tejido fue muy alta confirmando que la presencia de cinetina induce oxidación.

Cuadro 2. Efecto de sulfato de cobre en la formación de callo de *P. venusta* a los 49 días

Medio ¹	Callo (%)	Oxidación		
		1	2	3
Control-Cu	44	77	11	0
PIC-Cu	50	37	62	0
PIC-CIN-Cu	57	0	42	57

Conclusiones. La yema indujo mayor formación de callo que la hoja. El cobre tuvo un efecto promotor del crecimiento del callo en tanto que la cinetina incrementó la oxidación. La formación de callo disgregable de *P. venusta* permitirá iniciar los estudios con suspensiones celulares.

Bibliografía

1. Ferreira TD, Alvares PSM, Houghton PJ, Braz-Fillho R (2000). Constituintes químicos das raízes de *Pyrostegia venusta* e considerações sobre a sua importância medicinal. *Quim Nova* 23:42-26.
2. Loredó-Carrillo SE. 2007. Establecimiento de cultivos *in vitro* de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers, (Bignoniaceae) y análisis de metabolitos secundarios. Tesis de Maestría en Ciencias. CIEP-FCQ-UASLP.