

OBTENCIÓN DE RAÍCES TRANSFORMADAS DE *Solanum chrysotrichum*, PARA LA PRODUCCIÓN DE SAPONINAS ANTIFUNGICAS

Iris Nieto¹. Jesus Arellano² y Ma. Luisa Villarreal¹. ¹Centro de Investigación en Biotecnología Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad 1001. Colonia Chamilpa. C.P.62210. E:mail:nili@cib.uaem.mx ²Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno.UNAM

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 diversas saponinas esteroidales en los extractos orgánicos de hojas de esta planta, mismas que son responsables de la actividad contra dermatofitos humanos. De este grupo de saponinas el compuesto SC-1 se ha producido por cultivo de células en suspensión, con una concentración de 14 mg/g PS. Estos cultivos fueron posteriormente escalados a biorreactores "airlif (1). 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 para incrementar la producción de metabolitos secundarios vegetales, es la utilización de cultivos de raíces transformadas con *Agrobacterium rhizogenes*. En este trabajo se reporta la obtención de raíces transformadas de *S. chrysotrichum* utilizando dos cepas de *A. rhizogenes*, con el propósito de incrementar la acumulación de saponinas bioactivas con respecto a cultivos en suspensión

Metodología. Plántulas de *S. chrysotrichum* fueron micropropagadas de acuerdo a una técnica previamente descrita (1). Dichas plántulas fueron crecidas en medio MS completo introduciendo variaciones de nutrientes (sacarosa) y hormonas. Para la obtención de raíces transformadas se utilizó el método de infección basal de segmentos nodales (3), los cuales fueron infectados con dos cepas de *A. rhizogenes*: A4/pESC4 y C58/pRi15834. En algunos casos se adicionó acetosiringona 10µM. La evaluación de la transferencia del T-ADN fue corroborada por análisis de PCR, utilizando el gen *rolA* de *A. rhizogenes*, y los oligonucleótidos ROLA1 5' de 20 b y ROLA2 3' de 19 b (2), usando como templado el ADN total extraído de las raíces de *S. chrysotrichum* que fueron infectadas con C58 y A4, de esta manera se amplificó el fragmento del

gen *rolA* esperado de 299 pb. Los productos del PCR se observaron en un gel de agarosa al 1.2%.

Resultados y discusión. Se logró la micropropagación de *S. chrysotrichum* con una eficiencia del 100%.en medio MS con sacarosa al 30% y sin hormonas. La transformación genética de plántulas de *S. chrysotrichum* se logró con ambas cepas de *A. rhizogenes*. Se obtuvo un fenotipo característico de raíces peludas o "hairy roots", que están creciendo sin adición de hormonas. Las raíces así obtenidas fueron transferidas al medio líquido B5 con ticarcilina (500µg/ml) y sacarosa al 30%; se seleccionaron las de mejor crecimiento y, se subcultivaron en medio líquido B5 hasta obtener una biomasa abundante. Se cultivaron raíces no infectadas con *A. rhizogenes*, como control. Los explantes que fueron infectados con las dos cepas de *A. rhizogenes* el porcentaje de inducción de raíces con fenotipo característico; fue 20% para la cepa A4 y 25% para la C58. De las líneas de raíces infectadas se hizo una selección y se realizó la técnica de PCR, comprobándose la transformación en dos líneas que fueron infectadas con A4 y C58 respectivamente. El análisis por PCR de las líneas restantes así como la identificación y cuantificación de saponinas bioactivas en este material, está actualmente en proceso.

Conclusiones. Se logró la transformación genética de raíces de *S. chrysotrichum* utilizando las cepas A4/pESC4 y C58/pRi15834 de *A. rhizogenes*.

Bibliografía

- 1.-Villarreal, M., y Col. 1997. "Cell Suspensión Culture of *Solanum chrysotrichum* (Schdl)- A Plant producing an Antifungal Spirostanol Saponin". *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 50: 39-44.
- 2.-Anis M., y col. 1998. "Natural Genetic Transformation by *Agrobacterium rhizogenes*". *Plant Physiology*. 118: 543-550.
- 3.- Arellano J. And Hernández G. 1999. "Genetic Transformation of *Perezia Species*" *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 45: 215-221.