

Inducción de “hairy roots” en *Kalanchoe daigremontiana*

María Asunción Bravo-Díaz, Araceli Urquiza-López, Yessica Casales-Tlatilpa, Crescencio Bazaldúa, Pablo Emilio Vanegas-Espinoza, Alma Angélica Del Villar-Martínez. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Yautepec, Morelos, México. C.P. 62731. mbravod1800@alumno.ipn.mx

Palabras clave: *Agrobacterium rhizogenes*, *Kalanchoe daigremontiana*, cultivo de raíces

Introducción. *Kalanchoe daigremontiana* es una planta suculenta que pertenece a la familia Crassulaceae, es originaria de Madagascar y comúnmente se le conoce como “madre de miles”⁽¹⁾. Esta planta se ha utilizado en el tratamiento de heridas cutáneas, artritis, ulcera gástrica, reumatismo, tos y fiebre⁽²⁾. Diversos estudios reportan que la raíz de la planta acumula compuestos con actividad biológica importante sobre líneas celulares derivadas de cáncer⁽³⁾. Una alternativa para incrementar la producción de esos compuestos es el cultivo de raíces transformadas obtenidas mediante infección con *Agrobacterium rhizogenes*⁽⁴⁾. El objetivo de este trabajo fue establecer el cultivo de raíces transformadas inducidas por *A. rhizogenes* en segmentos internodales de *K. daigremontiana*.

Metodología. Se infectaron segmentos internodales con tres cepas de *A. rhizogenes* (15834, K599 y A4), se colocaron en medio MS semisólido con cefotaxima (200 mg/L). A continuación, se transfirieron a medio B5 semisólido con cefotaxima (200 mg/L)⁽⁵⁾ y se realizaron lavados cada 5 días con agua destilada estéril y cefotaxima (500 mg/L)⁽⁶⁾. Posteriormente se separaron inóculos de raíces para la resiembra y se transfirieron a medio B5 semisólido, las raíces que presentaron mayor crecimiento se transfirieron a medio B5 líquido.

Resultados.

El desarrollo de las raíces consideradas como transformadas, se vio favorecido en medio B5, como se observa en la figura 1, que muestra el desarrollo de las raíces a los 8 días de cultivo.

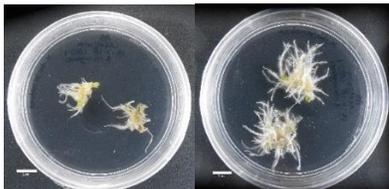


Figura 1. Desarrollo de la raíz putativamente transformada con la cepa 15834 de *Agrobacterium rhizogenes*.

Las raíces seleccionadas y transferidas a medio B5 sin antibiótico, mostraron crecimiento de *A. rhizogenes*, lo cual provocó la pérdida de las raíces por contaminación. La tabla 1 muestra la eficiencia de transformación con las tres cepas; en donde, se reporta que la cepa más eficiente fue la 15843.

Tabla 1. Porcentaje de eficiencia de transformación. Eficiencia de las cepas 15834, K599 y A4.

Cepa	Eficiencia de transformación (%)
K599	20
15834	100
A4	80

Se logró el desarrollo acelerado de las raíces y se generó el incremento de la biomasa. Se generaron 6 líneas de raíces posiblemente transformadas que se mantienen en crecimiento y libres de contaminación (Fig. 2).

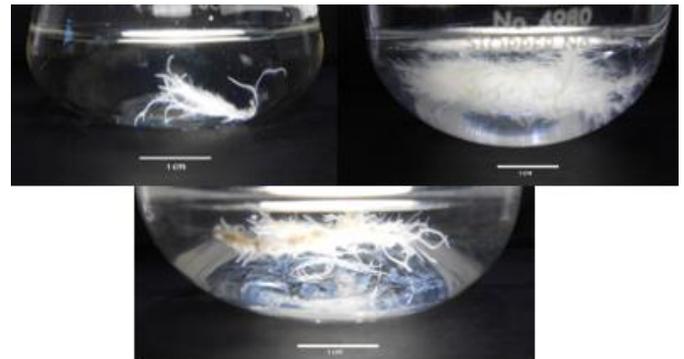


Figura 2. Apariencia de las líneas de raíces inducidas en *K. daigremontiana* cultivadas en medio líquido B5.

Conclusiones. La mayor eficiencia de transformación se obtuvo con la cepa la cepa 15834 (100%). El incremento de la biomasa entre las líneas seleccionadas se relaciona con la inserción azarosa del T-DNA. Se cuenta con líneas estables y en constante crecimiento.

Agradecimientos. SIP-IPN por el financiamiento (SIP 20180334). Casales-Tlatilpa, Urquiza-López y Bravo-Díaz agradecen a Conacyt por la beca.

Bibliografía.

1. Garces H, & Sinha N (2009). *CSH Protoc.* 4:1-9.
2. Úrményi F *et al* (2016). *Chem Biodivers* 13: 1707-1714.
3. Kolodziejczyk-Czepas J. & Stochmal A. *Phytochem Rev* 16:1155–1171.
4. Srivastaba S & Srivastaba A (2007) *J. Crit Rev Biotech.*
5. Ya-ut P *et al* (2011). *Biotechnol Lett.* 33:2519–2526
6. Jain N *et al* (2008). *S. Afr. J. Bot.* 74: 163–166