



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CALLOS DESDIFERENCIADOS Y MORFOGÉNICOS DE *Cecropia obtusifolia* Y SU CORRELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS HIPOGLUCEMIANTES.

Patricia Castillo¹, Juana Hernández¹, Eduardo Aranda¹, Pilar Nicasio²

¹Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad 1001, Colonia Chamilpa, 62210, Cuernavaca, Morelos. ²Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social. Argentina 1, Colonia Centro, 62790 Xochitepec, Morelos. Tel/fax: 01 777 3612155.

Correo electrónico: pisaliva@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Cecropia*, planta hipoglucemiante, callos

Introducción. *C. obtusifolia*, “guarumbo”, es una planta silvestre utilizada etnomedicamente como hipoglucemiante¹, propiedad que ha sido probada en roedores y en pacientes diabéticos, en los que además se encontró un importante efecto hipolipémico²⁻⁴. La actividad hipoglucemiante se atribuye a los compuestos ácido clorogénico (AC) e isoorientina (ISO)².

El objetivo del presente estudio, fue caracterizar la morfología de cultivos callogénicos de *C. obtusifolia* provenientes de explantes de hojas expuestos a diferentes fitorreguladores, así como su correlación con la producción de los compuestos hipoglucemiantes AC e ISO.

Metodología. Secciones de 0.5 cm² de hojas jóvenes de *C. obtusifolia* obtenidas a partir de plantas maduras colectadas en Cunduacán, Tabasco, fueron usadas como explantes; estas se desinfectaron superficialmente y se colocaron en tarros con medio MS semisólido con los fitorreguladores ácido naftalenacético (ANA), ácido 2,4-diclorofenociacético (2,4-D), ácido indolbutírico (AIB) o Picloram (Pi), todos a 8.92 µM en combinación con 2.22 µM de bencilaminopurina (BAP). Para el análisis estructural se tomaron muestras de los cultivos de cada tratamiento a la primera semana de cultivo y posteriormente cada 2 semanas; se fijaron en buffer de fosfatos con glutaraldehído (1.5%) y paraformaldehído (3.0%) por 24 horas a 4 °C, continuándose con el método propuesto por López, et al⁵. Para el análisis químico, las biomásas secas de callos a las 8 semanas de cultivo se extrajeron 3 veces por maceración con metanol 1:10 (p/v). Los extractos fueron reunidos y llevados a sequedad a presión reducida y los residuos recuperados en metanol para HPLC. El contenido de AC e ISO fue determinado por HPLC utilizando una columna RP-18, un sistema de gradientes y el método de estándar externo con muestras auténticas de AC (Sigma) e ISO (Indofine).

Resultados y discusión. En todos los tratamientos se generaron callos, los cuales variaron en sus características externas de acuerdo al tipo de fitorregulador empleado. Con la combinación Pi + BAP, se generaron callos desde la primera semana de cultivo y con los otros reguladores, a partir de la segunda semana. Sin embargo, a diferencia de éstos, cuando se empleó Pi (Figura 1c) no ocurrió el proceso de morfogénesis. Los callos desdiferenciados estuvieron constituidos por células parenquimáticas y células meristemáticas (Figura 1D). En general, la morfogénesis estuvo representada por raíces adventicias; en los cultivos

expuestos a AIB + BAP la morfogénesis fue observada a partir de la sexta semana (Figura 1A) y a la octava semana en cultivos expuestos a ANA + BAP y 2,4-D + BAP.

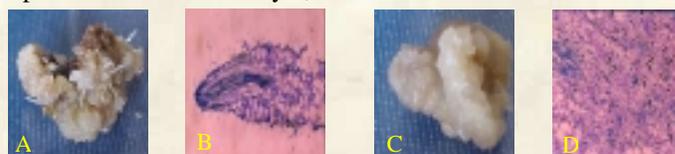


Figura 1. Diferentes estados de desarrollo de callos de *C. obtusifolia*.

- A) Callo rizogénico a las 12 semanas de cultivo en AIB+BAP
B) Estructura interna de un primordio de raíz generado vía rizogénesis indirecta
C) Callo no morfogénico a las 12 semanas en Pi+BAP
D) Estructura interna de un callo desdiferenciado, con una gran cantidad de gránulos de compuestos fenólicos

Los cultivos callogénicos conservaron la capacidad de producir el compuesto hipoglucemiante AC, en concentraciones similares en los cultivos de callos rizogénicos (en mg/g de biomasa ANA: 3.04±0.07; 2,4-D: 3.00±0.07; AIB: 3.98±0.33), en tanto que los tejidos desdiferenciados acumularon el compuesto en concentraciones menores (Pi: 1.09±0.11 mg/g de biomasa). Observamos que existe correlación entre la morfogénesis y la producción del compuesto AC.

Conclusiones. *C. obtusifolia*, es una planta medicinal con un gran potencial para su manejo biotecnológico, en virtud de tener células somáticas competentes para la morfogénesis y productoras de los compuestos secundarios a los que se les atribuye el efecto terapéutico.

Agradecimiento: Se agradece al IMSS el financiamiento otorgado (FOFOI-2002/097).

Bibliografía

- Argueta A., Cano L., Asselein L., Rodarte M.E. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, Tomo II. México, D.F. Instituto Nacional Indigenista (INI). 706-707
- Andrade-Cetto A. y Wiedenfeld H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 78: 145-149.
- Herrera-Arellano A., Aguilar-Santamaría L., García-hernández B., Nicasio-Torres P., Tortoriello J. 2004. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. Phytomedicine, 11: 561-566.
- Ortiz S. 2003. Evaluación de la actividad hipoglucemiante y cuantificación del ácido clorogénico en especies de *Cecropia*. Tesis de Ingeniero Bioquímico. Instituto Tecnológico de Zacatepec. México. 77 pp.
- López L, Máquez J, Munguía S., 1998. Técnicas para el estudio del desarrollo en Angiospermas. Libro de laboratorio. Departamento de Biología. UNAM. Las prensas de ciencia. México. D.F. 58 pp.