

Influencia de Auxinas y citoquininas sobre la producción de solasodina por cultivos en suspensión de *Solanum eleagnifolium* Cav.

MARIA ALEJANDRA ALVAREZ; MURIEL RATTI y ANA MARIA GIULIETTI

*Cátedra de Biotecnología - Facultad de Farmacia y Bioquímica - Junín 956
(1113) Buenos Aires - Argentina.*

Resumen: *Solanum eleagnifolium* Cav. es una especie nativa de Argentina capaz de producir solasodina por cultivos in vitro. En este trabajo se estudió el efecto del balance hormonal sobre la producción de solasodina por estos cultivos lográndose los valores de productividad máximos ($2,54 \text{ mg l}^{-1} \text{ día}^{-1}$) cuando se trabajó con NAA:KIN= $50 \mu\text{M}$: $0,25 \mu\text{M}$.

Influence of Auxines and citoquinins on solasodine production by *Solanum eleagnifolium* Cav. suspension cultures.

Summary: *Solanum eleagnifolium* Cav., a native species from Argentina, is able to produce solasodine by plant cell cultures. The effect of plant growth regulators in order to increase solasodine yields has been studied. The relationship NAA:KIN= $50 \mu\text{M}$: $0.25 \mu\text{M}$ done the highest productivity value ($2.54 \text{ mg l}^{-1} \text{ day}^{-1}$) has been found.

Abreviaturas

2,4-D:	ácido 2,4-diclorofenoxiacético
2,4,5-T:	ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético
IAA:	ácido indol-3-acético
NAA:	ácido 2-naftalenacético
KIN:	kinetina
GI:	índice de crecimiento
P:	productividad

PALABRAS CLAVES: *Solanum eleagnifolium* Cav. - solasodina - reguladores de crecimiento.
KEY WORDS: *Solanum eleagnifolium* Cav. - solasodine - growth regulators.

Introducción

Solanum eleagnifolium Cav. es una especie nativa de Argentina que contiene, principalmente en frutos, solamargina (1) cuyo aglicón, solasodina, puede ser utilizado como materia prima alternativa para la producción de drogas esteroidales (2). Se ha demostrado que es posible producir solasodina por cultivos in vitro de células vegetales (3). Con el fin de incrementar el rendimiento de solasodina en cultivos en suspensión de *S. eleagnifolium* Cav. se estudió el efecto de reguladores de crecimiento (auxinas y citoquininas) cuando se adicionan al medio de cultivo base.

Materiales y métodos

Material vegetal: Se iniciaron las suspensiones celulares desde la línea celular FB0009 *S. eleagnifolium* Cav. Dicha línea se estableció a partir de segmentos de hipocótilo de plántulas estériles que fueron utilizados como explantos para iniciar los cultivos de tejido indiferenciado (callo).

Estos callos fueron mantenidos en medio MSRT con 2,4-D como regulador de crecimiento (5 μM) (4).

Medio de cultivo:

- medio MSRT: medio MS (5) + vitaminas RT (6) = mioinositol (100 mg l⁻¹) + sucrosa (30 g l⁻¹).
- medios ensayados: medio MSRT suplementado con auxinas a distintas concentraciones (0.5 μM , 5.0 μM , 50 μM) y con diferentes combinaciones de kinetina con 2,4-D o NAA. Las relaciones de concentración auxina: kinetina usadas se detallan en la tabla 1.

En todos los casos el pH se ajustó a 5.6-5.8 antes de esterilizar.

Condiciones de cultivo:

Los experimentos se realizaron en erlenmeyers de 250 ml que contenían, cada uno de ellos, 40 ml de uno de los medios de cultivo ensayados. Se adicionó cantidad suficiente de suspensión celular de *S. eleagnifolium* Cav. de 9 días de edad a fin de alcanzar un tamaño de inóculo del 20% de peso fresco en el volumen final.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en agitador rotatorio a 100 rpm, temperatura de 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 hs, con una irradiancia de 1.8 mw⁻² seg⁻¹.

Las muestras se tomaron a los 7, 11, 18 y 22 días de cultivo. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

Parámetros evaluados: se evaluó en cada caso el crecimiento celular y la producción de solasodina según fuera descrito por Nigra y col. (1987). Los resultados fueron sometidos a análisis estadístico.

TABLA 1
Medios de cultivo con diferentes relaciones de concentración auxina: kinetina agregadas como reguladores de crecimiento al medio MSRT.

Citoquinina \ Auxinas	Kinetina (μM)		
	0.25	0.50	1.00
2,4-D ($5 \mu\text{M}$)	A	B	C
NAA ($50 \mu\text{M}$)	D	E	F

Resultados

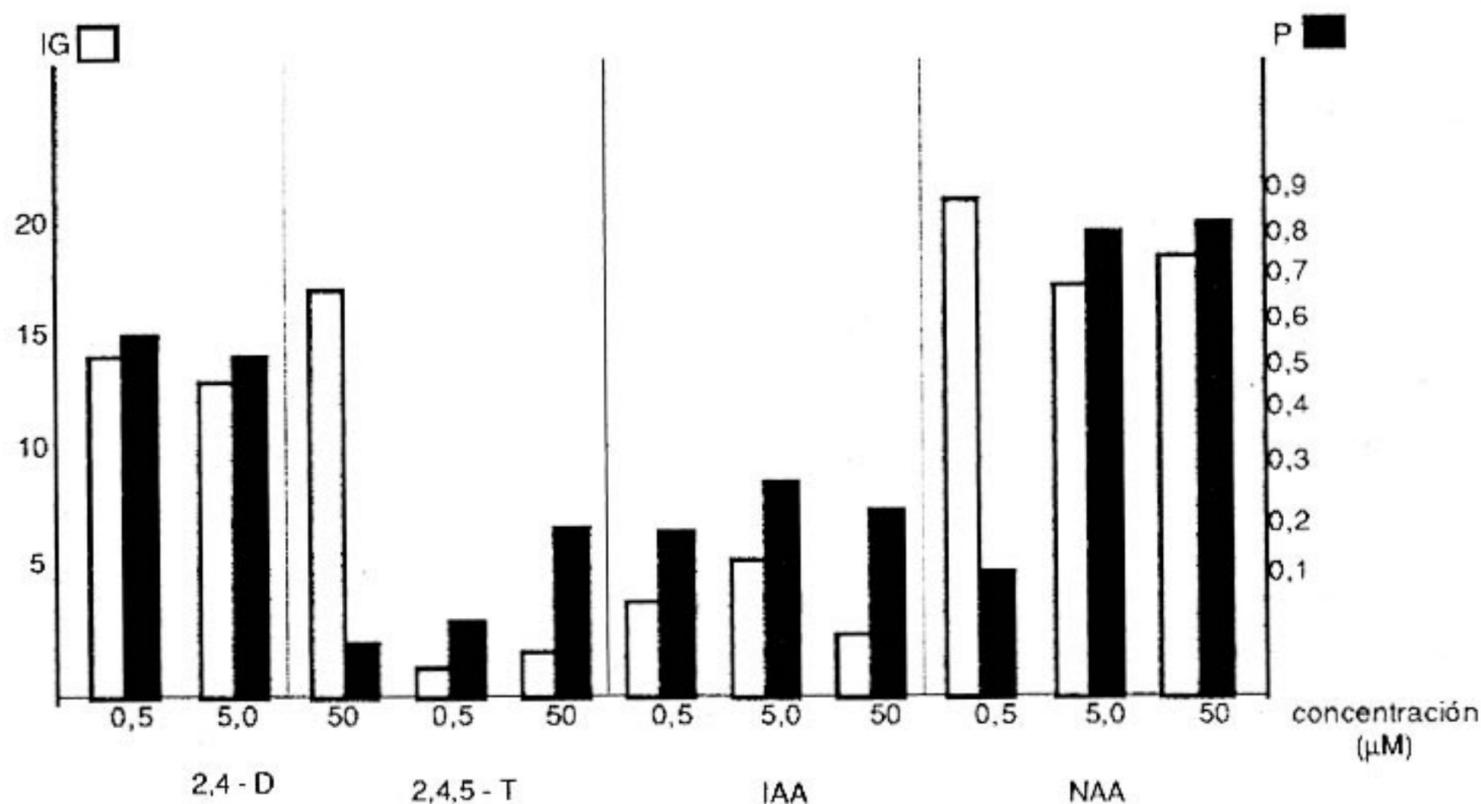


FIGURA 1
Efecto de diferentes concentraciones de auxinas sobre el crecimiento celular (IG) y la productividad de solasodina ($P = \text{mg l}^{-1} \text{ día}^{-1}$) de suspensiones celulares de *Solanum eleagnifolium* Cav.

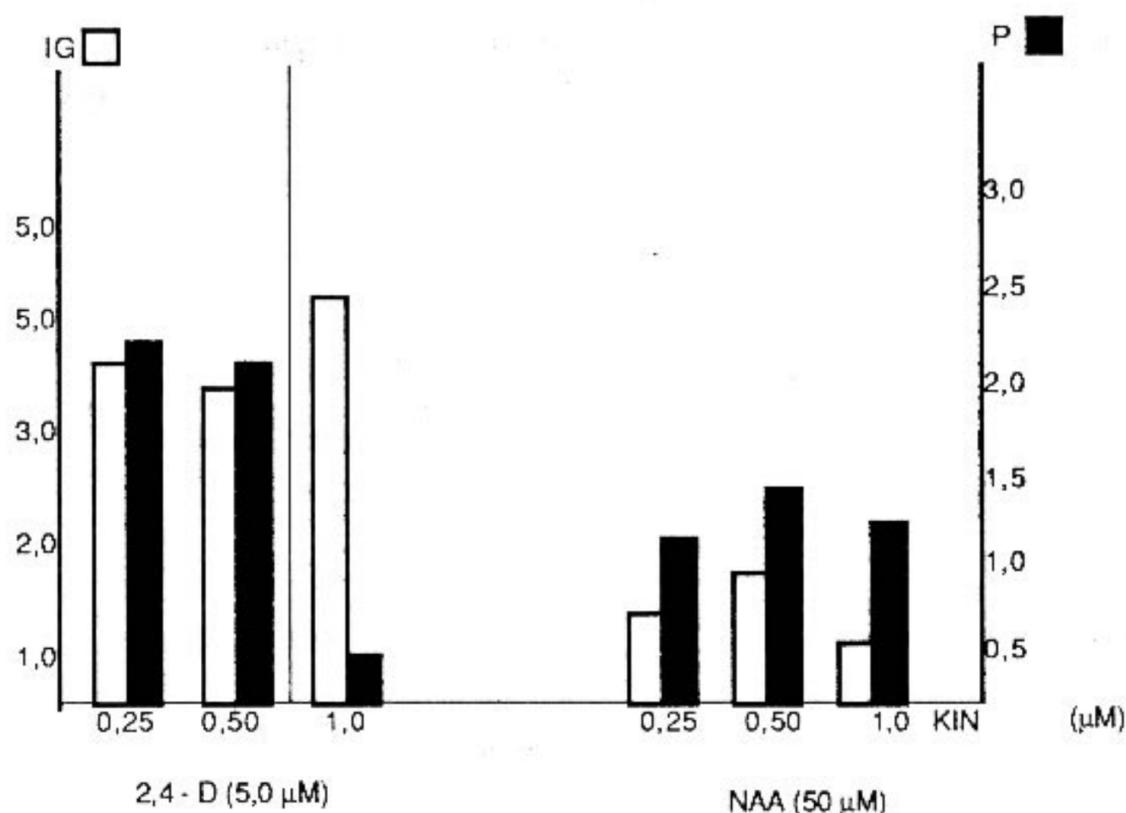


FIGURA 2

Efecto de diferentes combinaciones de auxinas y kinetina sobre el crecimiento celular y la productividad de solasodina de suspensiones celulares de *S. eleagnifolium* Cav. a los 11 días de cultivo.

Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 1 y 2.

Los valores de índice de crecimiento (IG) y de productividad (P) son significativamente mayores ($P < 0.05$) cuando la combinación al emplear NAA:KIN= 50 μM: 0.25 μM (Fig. 2)

Conclusiones

Se observó que la producción de solasodina está altamente influenciada tanto por la calidad como por la concentración del regulador de crecimiento utilizado.

El efecto más remarcable sobre el crecimiento celular y sobre la productividad de solasodina se obtuvo cuando se usaron las auxinas 2,4-D y NAA.

En todos los casos los mayores valores de productividad se obtuvieron después de los 11 días de cultivo, se alcanzaron los valores máximos con la combinación NAA: KIN.

P máxima (2.54 mg l⁻¹ día⁻¹) e IG máximo se obtuvieron con la combinación NAA: KIN= 50 μM: 0.25 μM. En este caso la productividad se incrementó un 200% respecto al valor obtenido cuando se usó exclusivamente NAA (50 μM) como regulador de crecimiento ($P = 0.8$ mg l⁻¹ día⁻¹).

El efecto favorable del NAA sobre la producción de metabolitos secundarios ha sido también observado por otros autores. NAA aparece como la auxina más efectiva para la producción de antraquinonas por cultivos sumergidos de *Morinda citrifolia* (7) y de ácido rosmarínico en *Anchusa officinalis* (8).

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que, en las condiciones de cultivo utilizadas, el balance hormonal óptimo tanto para el crecimiento celular como para la producción de solasodina es NAA: KIN = 50 μ M: 0.25 μ M.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), República Argentina y de Laboratorios Paul Hnos.

Bibliografía

1. Rodríguez, J.A. (1984). Tesis doctoral, Universidad Nacional de San Luis. Argentina.
2. Mann, J. (1978) *Adv. in Agronomy* 30: 207-245
3. Nigra, H.M.; Caso, O.H. and Giulletti, A.M. (1987). *Plant Cell Reports* 6: 135-137
4. Nigra, H.M.; Alvarez, M.A. and Giulletti, A.M. (1987). *Plant Cell Reports*, 8 (4): 230-233
5. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
6. Khanna, P. and Staba, E.J. (1968). *Lloydia* 31: 180-189
7. Zenk, M.H.; El Shagi, H. and Schulte, U. (1975). *Planta Med. Suppl.* 79-101
8. De Eknambul, W. and Ellis, B.E. (1985). *Plant Cell Reports* 4: 50-53

