

CULTIVOS *IN VITRO* DE *Lupinus campestris* Y SU EFECTO BIOLÓGICO.

Leticia Reyes Izquierdo*, Jesús Arnoldo Sánchez López, Rodolfo Figueroa Brito y Kalina Bermúdez Torres
Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI-IPN). Calle
CEPROBI No. 6, Col. San Isidro, C.P. 62731 Yautepec, Morelos, México.
Tel: *52557296000 Ext.52528, E-Mail: kbermudes@ipn.mx

Introducción

El género *Lupinus* se caracteriza por la presencia de alcaloides quinolizidínicos (AQ) como parte de una estrategia de defensa en contra de herbívoros (Wink, 1992). Extractos de AQ de plantas silvestres de *Lupinus campestris* poseen efecto insecticida, se ha demostrado su efecto sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (Bermúdez *et al.*, 2009). El cultivo *in vitro*, es una alternativa para la obtención de estos metabolitos secundarios (MS). Sin embargo, estos cultivos tienden a producir menores concentraciones de MS (Montes *et al.*, 2010), por lo que es necesario inducirlos. El metil jasmonato ha sido ampliamente utilizado para inducir el incremento en la producción de MS, específicamente AQ (Zhao *et al.*, 2005). El presente estudio tiene como objetivo el establecimiento de cultivos *in vitro* de *L. campestris* y su evaluación sobre larvas de *S. frugiperda*.

Metodología

Para romper la latencia física de las semillas y permitir su germinación, se realizaron 4 tipos de escarificación: mecánica (bisturí y aguja de disección, así como del lado del hilo y opuesta a él), ácida (H_2SO_4 al 98% y HCl al 98% a 5 y 10 min), abrasiva y remojo (T/A, 80°C, 24 y 48h). Así mismo, se evaluó el efecto de la luz sobre la germinación, para lo cual las semillas fueron incubadas en 3 condiciones de iluminación: luz 16 días, oscuridad 7 días/luz 9 días y oscuridad 16 días; y el efecto del soporte para lo cual se probaron 4 medios, Phytigel, Gelrite, Agar-Agua y Algodón Agua. Una vez obtenidas las plántulas, se evaluaron las mejores combinaciones de reguladores de crecimiento (cinetina y 2,4-D) para la inducción de callo. Para las pruebas de inducción, se evaluó por Cromatografía de Gases (GC) el estadio fenológico en el que la planta produce mayor cantidad de AQ, para lo cual se evaluaron plantas con cotiledones, 1 hoja, 2 hojas. La producción de AQ en plántulas en la etapa que presentó mayores contenidos de AQ fue inducida con Metyl jasmonato (MeJA) (100µM), evaluándose el efecto del tiempo de exposición (1, 3 y 6h). En una segunda etapa se evaluó el extracto de AQ a 50, 500 y 5000 ppm en ensayos de preferencia y no preferencia sobre larvas del cuarto instar de *S. frugiperda*.

Resultados Los resultados sugieren que el método más efectivo para romper la dormancia física de las semillas de *L. campestris* fue la escarificación mecánica con bisturí del lado del hilo (91% germinación), la mejor condición de iluminación fue oscuridad (7 días)- luz (9 días), el medio Phytigel es el medio de soporte donde se obtiene el mejor desarrollo. Al respecto de la inducción de callo y brote, los resultados muestran que el brote es inducido por Cinetina (1mg/L), para callo de hipocotilo (Cinetina: 1mg/L y 2,4-D: 1mg/L), de cotiledón (Cinetina: 0.5mg/L y 2,4-D: 0.5mg/L), y para raíz (Cinetina: 1mg/L y 2,4-D: 0.5mg/L).

Las plantas con mayor concentración de AQ fue la de hoja compuesta (6.8 mg/g). Estas fueron inducidas con MeJA, obteniendo como resultados que la exposición durante 3 h presentó un aumento del 55% (9.5 mg/g). Los extractos a 50 y 500ppm presentaron un efecto antialimentario y supresivo.

Conclusiones El método con bisturí del lado del hilo fue el más efectivo para romper la dormancia

La condición de Luz/oscuridad y el Phytigel desarrollaron mejores características fisiológicas.

Las concentraciones de reguladores de crecimiento para brote (Cinetina: 1mg/L) y para callo de hipocotilo (Cinetina: 1mg/L y 2,4-D: 1mg/L), de cotiledón (Cinetina: 0.5mg/L y 2,4-D: 0.5mg/L), y para raíz (Cinetina: 1mg/L y 2,4-D: 0.5mg/L).

Plantas de una hoja presentan mayor concentración de AQ.

La exposición con MeJA a 3h presentó la mayor concentración de AQ.

El extracto a 50y 500 ppm son activos al presentar efecto antialimentario y supresivo

Bibliografía

1. Bermúdez Torres K., Martínez Herrera J., Figueroa Brito R., Wink M. y Legal Luc. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *Biocontrol*, 54: 459-466.
2. Montes Hernández E. 2010. Perfil de Alcaloides Quinolizidínicos en plantas y cultivos *in vitro* de *Lupinus aschenbornii* Shauer. *Revista Brasileña de Farmacognosia* 21 (5):824-828.
3. Zhao J, Davis LC, Verpoorte R, 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances Review*, 23: 283-333.
4. Hernández Ferretiz, E., Rivera Meléndez, R., Ramos Herrera, O. J., Salinas Pérez, F. C., Rodríguez Monroy, M., Bermúdez Torres, K. 2008. Effect of scarification treatments on germination of *Lupinus montanus* HBK seed. *Proceedings de la 12. International Lupin Conference*. Fremantle, West Australia. Wink Michael. 1992. The role of quinolizidine Alkaloids in Plant – Insect Interactions. *Insect-Plant Interactions*. Volumen IV. Institut für Pharmazeutische Biologie. Heidelberg. Germany

