

# Obtención y caracterización de hairy roots de *Centella asiatica* (L.) Urban: un resultado preliminar hacia la producción biotecnológica de compuestos naturales ansiolíticos

Antoni Garcia-Baeza<sup>a</sup>, Miguel Angel Alcalde-Alvites<sup>b</sup>, Adriana Ponce-Rivera<sup>a</sup>, Javier Palazon-Barandela<sup>b</sup>, Karla Ramirez-Estrada<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Metabolismo Celular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, San Nicolás de Los Garza, N.L, México

<sup>b</sup>Laboratori de Fisiologia Vegetal, Facultat de Farmacia, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII sn, Barcelona, España

\*E-mail: karla.ramirezst@uanl.edu.mx

**Palabras clave:** *C. asiatica*, centelósidos, ansiolítico, hairy roots, *Agrobacterium rhizogenes*

## Introducción

Los centelósidos son metabolitos secundarios de naturaleza triterpénica producidos por la planta medicinal *C. asiatica*. Estos compuestos presentan actividad ansiolítica sin los efectos secundarios sedantes<sup>1</sup>. La biotecnología vegetal ofrece la posibilidad de obtener estas moléculas de *C. asiatica* sin comprometer su existencia en la naturaleza, además de permitir controlar las variables que afectan su producción. Los cultivos en suspensión de hairy roots son una de las plataformas biotecnológicas preferidas debido a su rápido crecimiento, requerimientos nutricionales simples y estabilidad genética<sup>2</sup>. Las hairy roots de *C. asiatica* no producen centelósidos en cantidades detectables ya que estos se encuentran en la parte aérea. Sin embargo, está comprobado que la elicitación aumenta significativamente la biosíntesis de estos compuestos<sup>3</sup>. Los niveles de centelósidos podrían verse incrementados aun más si se conoce mejor su ruta biosintética en esta plataforma. A continuación, mostramos la obtención y caracterización preliminar de 8 líneas de hairy roots de *C. asiatica*, el cual es el primer paso para estudiar dichos cultivos elicitados a través de un enfoque multiómico.

## Métodos

Se infectaron explantos de hoja de plantas *in vitro* de *C. asiatica* con *A. rhizogenes*. A los 2 días los explantos se transfirieron a medio MS + cefotaxima. Las raíces que surgieron de los explantos fueron cortadas y colocadas individualmente en medio MS + cefotaxima por 1-2 meses. Cada línea de hairy roots fue colocada en medio MS líquido para evaluar su producción de biomasa. Finalmente, se realizó una amplificación de genes por PCR para confirmar la transformación de las raíces.

## Resultados y discusión

Las raíces adventicias que surgieron de los explantos fueron seleccionadas en función de su tamaño (Fig. 1A). El tamaño es indicativo de su actividad proliferativa. En las producciones a gran escala se busca una alta biomasa del cultivo ya que permite reducir tiempo y costos. Se seleccionaron 8 raíces distintas, cada una de ellas representando una línea de raíces en particular (Fig. 1B). A las 2 semanas, las raíces crecieron por toda la placa (Fig. 1C). Cada

línea es genéticamente única y, por lo tanto, mostrará un comportamiento particular. La línea 1 (L1) fue la que mostró una mayor producción de biomasa (Fig 2). Finalmente, se confirmó la transformación de la línea L1 mediante la amplificación de genes del plásmido inductor de raíces (Ri) de *A. rhizogenes* (Fig. 3).

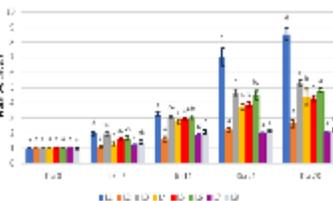
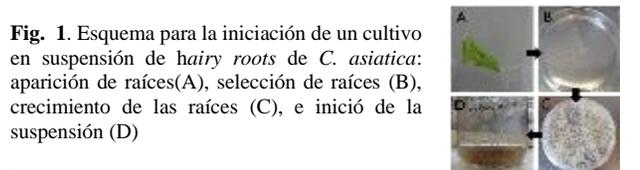


Fig. 2. Producción de biomasa de las 8 líneas de raíces

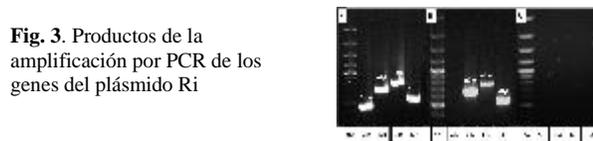


Fig. 3. Productos de la amplificación por PCR de los genes del plásmido Ri

## Conclusiones

Se obtuvo una línea de hairy roots con alta capacidad de producción de biomasa. Este es un primer paso crucial para estudiar y lograr el control de la producción biotecnológica de centelósidos, prometedores compuestos naturales ansiolíticos, en hairy roots.

## Referencias

1. Gray, N. E., Alcazar Magana, A., Lak, P., Wright, K. M., Quinn, J., Stevens, J. F., Maier, C. S., & Soumyanath, A. *Phytochem. Rev.* **2018**. 17(1), 161–194.
2. Sharma, P., Padh, H., Shrivastava, N. *Eng. Life Sci.* **2013**, 13 (1), 62–75.
3. Gallego, A., Ramirez-Estrada, K., Vidal-Limon, H. R., Hidalgo, D., Lalaleo, L., Khan Kayani, W., Cusido, R. M., & Palazon, J. *Eng. Life Sci.* **2014**. 14, 633–642