

BV18. Cultivo de callos y desarrollo de un protocolo de micropropagación de *Stevia maimarensis*

Elso, O.G. (1,2)*; Sülsen, V.P. (1,2); Rodriguez Talou, J. (3,4); Perassolo, M. (3,4).

(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacología, Cátedra de Farmacognosia, Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA), Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Microbiología, Inmunología, Biotecnología y Genética, Cátedra de Biotecnología, Buenos Aires, Argentina. (4) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Buenos Aires, Argentina. *orlandoelso@hotmail.com

Stevia maimarensis (Hieron.) Cabrera (Asteraceae) es una especie endémica de Argentina, presente en las provincias fitogeográficas Prepuneña y Chaqueña. A partir de esta especie se ha aislado la lactona sesquiterpénica eupatoriopirina, activa en ensayos *in vitro* e *in vivo* contra *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Dada la baja abundancia y localización restringida de *S. maimarensis* y el potencial farmacológico de eupatoriopirina, se decidió desarrollar un protocolo de micropropagación para esta especie y buscar un medio de cultivo para el desarrollo de callos.

Se establecieron cultivos *in vitro* iniciales a partir de aquenios desinfectados de *S. maimarensis* en medio Murashige-Skoog (MS), que se utilizaron para los ensayos posteriores. Para inducir el crecimiento de tallos adventicios, se cultivaron segmentos nodales en medio MS con diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP) (0.5-1.5 ppm). Luego de 45 días, se cuantificaron el número de tallos y de segmentos nodales desarrollados por explanto. Por otro lado, para inducir el crecimiento de raíces adventicias, se cultivaron los segmentos nodales en medio MS con diferentes concentraciones de ácido naftalenacético (NAA), ácido indolacético (IAA) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Para el desarrollo de callos, se cultivaron segmentos nodales en medio MS con diferentes combinaciones de auxinas y citoquininas. Luego de 45 días, se evaluó visualmente el crecimiento y la friabilidad de los callos obtenidos. La detección de eupatoriopirina en extractos diclorometánicos del material vegetal se realizó mediante cromatografía en capa delgada (TLC) contra un estándar del compuesto de interés.

A partir del cultivo *in vitro* de aquenios de *S. maimarensis* se desarrollaron plántulas con un solo tallo y sin desarrollo espontáneo de raíces. El medio MS adicionado con 1.0 ppm de BAP indujo el desarrollo de un mayor número de tallos (4.8) y segmentos nodales por explanto (20.8) comparado con el control (1.6 y 11.1, respectivamente). Por otra parte,

no se evidenció el desarrollo de raíces adventicias en ninguna de las condiciones ensayadas. Se detectó eupatoriopicrina en los extractos de tallos adventicios de *S. maimarensis* luego del tratamiento de los segmentos nodales con BAP. Con respecto a los cultivos de callos, los medios de cultivo con NAA 1 ppm (solo o en combinación con 0.2 ppm de kinetina o BAP) dieron origen a callos friables que crecieron abundantemente. En los extractos de estos callos no se detectó la presencia de eupatoriopicrina. Se lograron establecer cultivos *in vitro* de *Stevia maimarensis* a partir de aquenios de esta especie. Si bien se encontraron condiciones de cultivo para el desarrollo de callos friables, no se detectó la presencia de eupatoriopicrina en los mismos. Finalmente, se cumplieron con éxito las primeras etapas de un protocolo de micropropagación de *S. maimarensis*, al encontrarse un medio de cultivo para el desarrollo de tallos adventicios.