



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

" ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS
in vitro DE Bixa orellana L. "

TESIS

PRESENTADA POR:

Yereni Minero Garcia

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1993

BIBLIOTECA CICY

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
I.ANTECEDENTES	2
1. Bixa orellana L.	2
2. TAXONOMIA	2
3. DESCRIPCION DE LA PLANTA	3
4. VARIEDADES	3
5. CLIMA Y SUELO	4
6. PROPAGACION	4
7. PLAGAS Y ENFERMEDADES	4
8. PRODUCCION Y MERCADO	5
9. PAISES PRODUCTORES	5
10. COMPOSICION QUIMICA DE LA SEMILLA	6
11.PIGMENTO	6
11.1Constituyente	6
11.2 Degradación térmica	6
11.3 Ensayo espectral	7
12. EXTRACCION Y PREPARACION DEL PIGMENTO	7
13. PREPARACIONES COMERCIALES	8
13.1 Pigmento de achiote soluble en agua	8
13.2 Pigmento de achiote soluble en aceite	8

13.3 Suspensión de bixina	8
13.4 Pigmento de achiote insoluble	9
14. POTENCIA Y ESTABILIDAD	9
15. USOS	9
16. TOXICOLOGIA	10
17. CAROTENOIDES	10
17.1 Definición y nomenclatura	11
17.2 Estructura y clasificación	12
17.3 Propiedades físicas	12
17.4 Propiedades espectroscópicas	12
17.5 Identificación	13
17.6 Cromatografía	13
17.7 Funciones	13
18. CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES	14
18.1 Tipos de cultivos	14
18.2 Medios de cultivo	14
18.2.1 Requerimientos nutricionales	15
18.2.2 Requerimientos de fitoreguladores	15
18.3 Cultivo de callos	16
II.OBJETIVOS	18
III.MATERIALES Y METODOS	19
A. MATERIALES	
1. MATERIAL BIOLOGICO	19
2. REACTIVOS	19
B. METODOS	
1. ASEPSIA DE SEMILLAS	19
2. CONDICIONES DE PREGERMINACION	19
3. CONDICIONES DE GERMINACION	20
4. PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO	20
4.1 Preparación de soluciones concentradas (Stocks)	20
4.2 Preparación de medios de cultivo semisólido	20
4.3 Preparación de medios de cultivo semisólido con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento	20

5. INDUCCION DE CALLOS	21
5.1 Resiembra	21
5.2 Incubación	21
6. EVALUACION DE LA INDUCCION DE CALLOS	21
7. MANTENIMIENTO DE CALLOS	22
7.1 Tratamiento 1	22
7.2 Tratamiento 2	22
7.3 Tratamiento 3	22
8. EVALUACION DE MANTENIMIENTO DE CALLOS	22
9. EXTRACCION DE PIGMENTOS	23
10. CUANTIFICACION DE PIGMENTOS	23
10.1 Cuantificación del contenido de carotenoides totales	23
10.2 Cuantificación de bixina	24
11. IDENTIFICACION DE PIGMENTOS	24
IV RESULTADOS	25
V CONCLUSIONES	38
VI BIBLIOGRAFIA	39
VII APENDICE I	44

INTRODUCCION

Bixa orellana L. es una planta silvestre perteneciente a la familia de las bixáceas introducida al cultivo debido a que de las semillas se obtiene un pigmento rojo-naranja utilizado en la industria alimenticia, de los cosméticos y de las bellas artes. El pigmento se encuentra en la región superficial de la semilla (arilo) en forma de un fino polvo con carácter resinoide. Esta constituido por la orellina (pigmento amarillo) y la bixina (pigmento rojo). Este último un monometil ester de un ácido cis- polien dicarboxílico, es el principal pigmento presente en la semilla el cual representa el 80% del pigmento total (Wurts y Torreblanca, 1983).

B. orellana L. es una especie que es suceptible al ataque de bacterias, hongos e insectos que dañan a las hojas, ramas, frutos, cápsulas y semilla (Ohler, 1968). En la actualidad existe una gran controversia en cuanto a número de variedades existentes y de si alguna de ellas son resistentes a algunas enfermedades. Estas variedades, presentan una serie de variaciones en el color de los tallos, flores, cápsulas y semillas; en el tamaño y forma de las cápsulas y espinas; así como también en el número de semillas por cápsula y el contenido de pigmentos en las mismas. A pesar de toda ésta problemática, ésta especie es explotada regionalmente para la manufactura de condimentos, consumo local y explotación. Sin embargo, a pesar de su importancia comercial en la literatura no existen estudios bioquímicos o fisiológicos sobre ésta especie, por lo que estamos muy lejos de conocer con precisión las rutas metabólicas de síntesis y degradación de sus pigmentos.

Una alternativa para intentar los primeros avances en éste sentido nos la brinda los sistemas de cultivo *in vitro* ya que nos permitirían realizar dichos estudios con las líneas celulares órgano específicas, en lugar de realizarlo con la planta completa.

Por lo que en éste trabajo se pretende el establecimiento de cultivos de callos de hojas, tallos y raíces de *B. orellana* L. para obtener lineas celulares productoras de pigmentos carotenoides (bixina) haciendo uso de técnicas de cultivo de tejidos vegetales y de las técnicas espectrofotométricas y cromatográficas para la cuantificación y determinación de los mismos en los diferentes tejidos y callos con la finalidad de establecer las bases para iniciar los primeros estudios bioquímicos sobre la síntesis de la bixina y sus derivados ya que hasta la fecha no existen reportes en la literatura sobre el establecimiento de cultivos *in vitro* de ésta especie.