

# INDICE

INTRODUCCION	1
CAPITULO I: ANTECEDENTES	
1.1 FAMILIA DE LAS CACTACEAS	4
1.2 DESCRIPCION DE LA PLANTA	
1.2.1 TAXONOMIA	6
1.2.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS	7
1.2.3 DISTRIBUCION GEOGRAFICA	8
1.2.4 COMPOSICION QUIMICA	9
1.2.5 UTILIDAD DE LAS CACTACEAS	16
1.2.6 USO DE LAS CACTACEAS PARA LA OBTENCION DE COLORANTES	16
1.3 EL CULTIVO DE CELULAS VEGETALES	
1.3.1 CULTIVO DE TEJIDOS	18
1.3.2 VENTAJAS Y LIMITACIONES DEL CULTIVO DE TEJIDOS <i>in vitro</i>	21
1.3.3 INDUCCION DEL CULTIVO EN MEDIO SOLIDO	21
1.3.4 INICIACION DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO	22
1.3.5 MANTENIMIENTO DE UN CULTIVO EN MEDIO SOLIDO	23
1.3.6 CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION	24
1.3.7 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO	26
1.3.8 FACTORES QUE AFECTAN LA BIOSINTESIS DE PIGMENTOS EN CULTIVO DE TEJIDOS	27
1.4 METODOS DE IDENTIFICACION UTILIZADOS EN EL ANALISIS DE PIGMENTOS	41
CAPITULO II: MATERIALES Y METODOS	
2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	44
2.2 MATERIAL BIOLOGICO	45
2.3 METODOS	
2.3.1 DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO	46
2.3.2 INDUCCION DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS EN LOS CULTIVOS DE CELULAS EN SUSPENSION	49
2.3.3 EXTRACCION DE PIGMENTOS	52
2.3.4 SEPARACION DE LOS PIGMENTOS	53
2.3.5 IDENTIFICACION DE LOS PIGMENTOS	56
CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSION	
3.1 FASE DE INDUCCION Y MANTENIMIENTO DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO	57
3.1.1 ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO	57
3.1.2 CICLO DE CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO	59

3.2	PRODUCCION DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES	62
3.2.1	AUMENTO EN LA CONCENTRACION DE LA FUENTE DE CARBONO	64
3.2.2	INDUCCION CON HOMOGENADOS FUNGICOS	66
3.2.3	INDUCCION POR ESTRES SALINO	68
3.3	EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS	71
3.4	SEPARACION CROMATOGRAFICA DE LOS PIGMENTOS	73
3.5	IDENTIFICACION DE LOS PIGMENTOS	77
CAPITULO IV: CONCLUSIONES		81
APENDICE		83
BIBLIOGRAFIA		85

## RESUMEN

*Stenocereus queretaroensis* es una cactácea que crece en el centro de la República Mexicana, que se caracteriza por poseer frutos con un alto contenido de betalaínas, compuestos ampliamente utilizados como colorantes de origen natural. Por otra parte, y debido a que en los últimos años se ha cuestionado la seguridad del uso de algunos colorantes sintéticos en los alimentos y medicamentos, su uso se encuentra ahora muy restringido. Es por esto que, los pigmentos obtenidos de fuentes naturales se encuentran en estudio para determinar si es factible utilizarlos como alternativa a los sintetizados químicamente. Este trabajo forma parte de esa búsqueda, utilizando el cultivo de tejidos como una alternativa biotecnológica para la producción de pigmentos. Se propone el establecimiento de cultivos *in vitro* provenientes del fruto de *S. queretaroensis*. A partir de cultivos de callos, se indujeron cultivos en suspensión en medio MS con 13.5  $\mu\text{M}$  2,4-D, 10.7  $\mu\text{M}$  ANA y 9.2  $\mu\text{M}$  cinetina. En estos cultivos, se realizaron experimentos para aumentar y/o inducir la síntesis de pigmentos. Las estrategias utilizadas fueron: el aumento de la concentración de la fuente de carbono, la adición de homogenados fúngicos y el estrés salino. El aumento en el contenido de pigmentos de los cultivos en suspensión tuvo éxito en los dos primeros casos, más no en el último. Para llevar a cabo la identificación de los pigmentos obtenidos, se utilizaron técnicas cromatográficas como la cromatografía de capa delgada (ccd), la cromatografía de partición (cp-II), y la cromatografía en columna flash (cc-flash); así como métodos espectrométricos como la espectrofotometría UV-Visible, el infrarrojo (IR) y la resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H-RMN}$ ).