



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

ACTIVIDAD PEROXIDASICA EN
CULTIVO *in vitro* DE RAICES DE
Raphanus sativus



TESIS

PRESENTADA POR:

MARIA DE FATIMA MEDINA LARA

EN SU EXAMEN PROFESIONAL

EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1997.

INDICE

CONTENIDO

Pág.

Indice.....	i
Indice de figuras.....	iv
Indice de cuadros.....	v
Resumen.....	vi
1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Cultivo de tejidos vegetales.....	4
2.1.1. El explante.....	4
2.1.2. Asepsia.....	6
2.1.3. Medios de cultivo.....	7
2.1.4. Cultivo de tejidos vegetales en la producción de sustancias naturales..	11
2.1.5. Ventajas y desventajas del cultivo de tejidos vegetales.....	13
2.1.6. Cultivo de raíces <i>in vitro</i>	14
2.1.7. Inductores.....	15
2.2. Peroxidasas.....	17
2.2.1. Oxido-reductasas.....	17
2.2.2. Generalidades de las peroxidasas.....	18
2.2.3. Química y bioquímica de las peroxidasas.....	20
2.2.4. Localización celular de las peroxidasas.....	24
2.2.5. Funciones biológicas.....	25
2.2.6. Procesos fisiológicos mediados por peroxidasas.....	26
2.2.7. Aplicaciones de las peroxidasas.....	29
2.3. Utilidad de la especie <i>Raphanus sativus</i>	31

3. OBJETIVOS.....	34
4. HIPOTESIS.....	35
5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
6. MATERIALES Y METODOS.....	37
6.1. Material biológico.....	37
6.2. Ciclo de cultivo.....	37
6.2.1. Peso fresco.....	37
6.2.2. Peso seco.....	38
6.2.3. Conductividad.....	38
6.2.4. pH.....	38
6.3. Actividad de las peroxidasas <i>in vitro</i>	38
6.3.1. Método de extracción.....	38
6.3.2. Cuantificación de la actividad.....	39
6.4. Inducción.....	40
6.4.1. Acido salicílico y ácido acetil salicílico.....	40
6.4.2. Macerozima.....	40
7. RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
7.1. Caracterización de las líneas de raíces.....	42
7.1.1. Caracterización de la línea R3.....	44
7.1.2. Caracterización de la línea R12.....	45
7.1.3. Comparación de las líneas R3 y R12.....	47
7.2. Actividad de las peroxidasas <i>in vitro</i>	52
7.2.1. Validación de la técnica para la determinación de la actividad peroxidásica.....	52
7.3. Actividad de peroxidasa en los cultivos de <i>Raphanus sativus</i>	56
7.3.1. Actividad específica en la línea R3.....	56
7.3.2. Actividad específica en la línea R12.....	59

7.3.3. Comparación de la actividad específica de peroxidasa en ambas líneas de raíces.....	63
7.4. Inducción.....	65
7.4.1. Efecto del ácido salicílico y el ácido acetil salicílico sobre la actividad de peroxidasa en la línea R12.....	66
7.4.1. Efecto de la macerozima sobre la actividad de peroxidasa en las líneas R12, R3 y R9.....	69
8. CONCLUSIONES.....	72
9. APENDICE.....	73
10. REFERENCIAS.....	74

RESUMEN

Las peroxidasas son enzimas que catalizan reacciones de oxidorreducción presentes, en forma mayoritaria en las plantas; estas enzimas tienen gran valor comercial por sus múltiples aplicaciones. Sin embargo, tradicionalmente su fuente comercial de extracción, es a través de raíces de *Armoracea rusticana* cultivadas en el campo, las cuales están sujetas a las condiciones medio ambientales. Por lo tanto, el uso de nuevas tecnologías, como el cultivo de tejidos vegetales, podrían representar una alternativa en la búsqueda de nuevas fuentes de obtención.

En el presente trabajo se reporta la evaluación de la actividad de peroxidasa en dos cultivos de raíces normales de *Raphanus sativus*, tanto en el tejido como en el medio de cultivo, así como también se evalúa el efecto de los ácidos salicílico y acetil salicílico, así como de la macerozima, sobre los niveles de actividad de peroxidasa en dichos cultivos de raíces.

Los resultados de esta investigación muestran que se obtienen líneas con un índice de crecimiento elevado y la actividad de peroxidasa encontrada en nuestros cultivos de raíces, es semejante a la encontrada en la masa celular de cultivos en suspensión y la actividad en el medio de cultivo es 50% mayor que en el de células en suspensión. Se observó, que en general los ácidos salicílico y acetil salicílico así como la macerozima, en ninguna de sus concentraciones, presentan un efecto positivo sobre la actividad específica de las peroxidasas en el tejido, sin embargo, estos compuestos muestran un efecto inhibitorio sobre la actividad específica de las peroxidasas en el medio de cultivo, siendo que dicha actividad disminuye hasta en un 80%.