

INDICE

Contenido	Pág
Indice de figuras.....	iv
Indice de cuadros.....	vi
Lista de abreviaturas.....	vii
Resumen.....	viii
Introducción.....	1
I. Antecedentes.....	3
I.1. El Café.....	3
I.1.1. Historia.....	3
I.1.2. Taxonomía y botánica.....	6
I.1.2.1. Clasificación taxonómica.....	6
I.1.2.2. Descripción botánica.....	7
I.1.3. Enfermedades y plagas que atacan al café.....	10
I.2. La embriogénesis somática.....	11
I.3. La embriogénesis somática en café.....	13
I.4. Embriogénesis somática y proteínas extracelulares.....	15
I.5. Electroforesis.....	18
II. Justificación.....	21
III. Objetivo general.....	22
III.1. Objetivos específicos.....	22
IV. Diseño experimental.....	23
V. Materiales.....	24
V.1. Reactivos.....	24
V.2. Material biológico.....	24

V.3. Material de vidrio.....	24
VI. Métodos.....	25
VI.1. Ciclo de cultivo.....	25
VI.1.1. Paquete celular.....	25
VI.1.2. Viabilidad.....	25
VI.1.3. Número de células por ml.....	26
VI.1.4. Peso fresco.....	26
VI.1.5. pH.....	26
VI.1.6. Conductividad.....	26
VI.2. Obtención del extracto proteico.....	27
VI.2.1. Obtención del extracto proteico intracelular.....	27
VI.2.2. Obtención de la proteína extracelular.....	27
VI.3. Determinación de la proteína total.....	28
VI.4. Electroforesis SDS-PAGE de proteínas intra y extracelulares.....	30
VI.5. Tinción con plata.....	30
VII. Resultados y discusión.....	32
VII.1. Caracterización del cultivo de células en suspensión.....	32
VII.2. Cuantificación de proteína intracelular membranal, soluble y total	37
VII.2.1. Cuantificación de proteína intracelular acumulada.....	38
VII.2.2. Cuantificación de proteína extracelular.....	40
VII.3 Estandarización de las condiciones para el manejo de las fracciones protéicas intra y extracelulares.....	41
VII.4 Análisis de concentración	44
VII.5 Análisis del patrón electroforético de proteínas intracelulares....	45

VI.6 Análisis del patrón electroforético de proteínas extracelulares.....	45
VIII. Conclusiones.....	52
IX. Anexo 1.....	53
X. Referencias.....	54

RESUMEN

La embriogénesis somática o asexual se define como el proceso mediante el cual las células somáticas se desarrollan hasta plantas a lo largo de los mismos estadios morfológicos característicos de su contraparte cigótica (Schmidt et al., 1994). Las primeras descripciones sobre embriogénesis somática provienen de las observaciones realizadas en cultivos de células de zanahoria (*Daucus carota L.*) convirtiéndose por la simplicidad del proceso en esta especie, en el modelo universal para el estudio de la embriogénesis somática (Zimmerman, 1993). Existen varios reportes que señalan que durante los diferentes estadios de la embriogénesis somática, se secretan al medio proteínas cuya función aún se desconoce pero por ciertas evidencias se sugiere que tienen un papel preponderante en la comunicación intercelular y muy posiblemente en la realización de este proceso.

En este trabajo, se cuantificó la cantidad de proteína secretada al medio de cultivo por una línea de células en suspensión de *Coffea arabica L.*, así como la cantidad de proteína intracelular de dicha línea de células en suspensión. Asimismo, se analizaron los patrones electroforéticos de las proteínas intra y extracelulares, de la misma línea, a lo largo de un ciclo de cultivo, encontrando diferencias en el patrón, particularmente de la proteína extracelular. Se analizaron las semejanzas con otras proteínas extracelulares, aisladas en zanahoria y otros cultivos, las cuales participan en el proceso de la embriogénesis somática en zanahoria.