



UADY
FACULTAD DE
QUÍMICA

**"INDUCCIÓN DE LA SÍNTESIS DE
CAPSAICINOIDES EN CULTIVOS DE CÉLULAS EN
SUSPENSIÓN DE CHILE HABANERO (*Capsicum
chinense* Jacq.)"**

TESIS

**PRESENTADA POR
YURIANA DE LA LUZ NIETO PELAYO**

**EN OPCIÓN AL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2006

BIBLIOTECA CICY

ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Introducción	1
CAPÍTULO I	2
ANTECEDENTES	2
METABOLITOS SECUNDARIOS	2
CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES	3
Cultivo de suspensiones celulares	4
EL MODELO DE ESTUDIO: <i>Capsicum chinense</i> Jacq	5
Historia del chile	5
Características botánicas del chile habanero	6
Importancia del chile habanero	6
Usos del chile habanero	8
LOS CAPSAICINOIDES	8
Propiedades fisicoquímicas de la capsaicina	9
Biosíntesis de la capsaicina	10
Pungencia del chile habanero	12
Producción de capsaicina en cultivos de células en suspensión	13
INDUCTORES QUÍMICOS DEL METABOLISMO SECUNDARIO	14
Metil jasmonato	16
Biosíntesis del metil jasmonato	17
Funciones del metil jasmonato	18

	Página
RESPUESTA DE LAS PLANTAS A LA INDUCCIÓN	19
Especies reactivas de oxígeno	19
Ascorbato	20
CAPÍTULO II	23
OBJETIVOS	23
OBJETIVO GENERAL	23
Objetivos particulares	23
HIPÓTESIS	24
CAPÍTULO III	25
MATERIALES Y MÉTODOS	25
DISEÑO EXPERIMENTAL	25
 MATERIAL BIOLÓGICO	 27
MÉTODOS	28
Obtención de los cultivos	28
Caracterización de los cultivos de células en suspensión	28
Peso fresco	28
Peso seco	28
Número de células por unidad de volumen	29
Índice de crecimiento	29
 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS CAPSAICINOIDES Y DE ALGUNOS DE LOS INTERMEDIARIOS DE LA RUTA METABÓLICA	 29
Extracción de capsaicinoides e intermediarios a partir de células	30
Extracción de capsaicinoides e intermediarios del medio de cultivo	30
Cuantificación de capsaicinoides e intermediarios por densitometría-CCF	30
Curva de calibración de capsaicina y vainillina	31

	Página
Curva de calibración de ácido cinámico y acido ferúlico	31
Preparación de la solución madre de metil jasmonato	31
Inducción con metil jasmonato	32
CAPÍTULO IV	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
 OBTENCIÓN Y MANTENIMIENTO DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE <i>C. chinense</i> Jacq	34
 CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DEL CULTIVO DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE <i>C. chinense</i> Jacq	35
Curvas de crecimiento, peso fresco y peso seco	35
Índice de crecimiento (IC)	36
Velocidad máxima de crecimiento (μ)	37
Tiempo de duplicación (Td)	37
Conteo celular por unidad de volumen durante el ciclo de cultivo	37
 CUANTIFICACIÓN DE LA CAPSAICINA Y DE ALGUNOS DE SUS INTERMEDIARIOS METABÓLICOS, PRESENTES EN CULTIVOS DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE <i>C. chinense</i> Jacq. DURANTE EL CICLO DE CULTIVO	38
Estandarización del método de cuantificación	38
Cuantificación de la capsaicina a lo largo del ciclo de cultivo en condiciones no inductivas	42
 RESPUESTA A LA INDUCCIÓN CON METIL JASMONATO	43
Dosis-respuesta y tiempo de exposición al inductor	44

Página

Efecto del MeJa sobre el peso fresco y el peso seco de la línea de células en suspensión de <i>Capsicum chinense</i> Jacq	44
Efecto del MeJa sobre la acumulación de capsaicina y de sus intermediarios en suspensiones celulares de <i>Capsicum chinense</i> Jacq	46
CAPÍTULO V	54
CONCLUSIONES	54
APÉNDICE	56
LISTA DE ABREVIATURAS	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMEN

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es un producto agrícola de gran importancia en la industria alimenticia. Además, el interés por esta planta se ha incrementado por la presencia de metabolitos secundarios, que tienen un efecto benéfico sobre la salud humana. Dentro de este grupo de compuestos se encuentran la capsaicina y los ácidos fenólicos, de los cuales se sabe que reducen el riesgo de contraer algunas enfermedades, incluyendo, problemas cardiovasculares y otros males crónico degenerativos.

La capsaicina es un metabolito secundario que se localiza únicamente en las especies del género *Capsicum*, acumulándose concentraciones mayores en la especie *Capsicum chinense* Jacq. (chile habanero). Este metabolito es de gran importancia, ya que se utiliza en la industria alimentaria y farmacológica. Debido a que la capsaicina se eleva como respuesta de defensa en condiciones de estrés en las plantas, en el presente trabajo se estudió el efecto de diferentes concentraciones de metil jasmonato simulando un ataque por patógenos, sobre células en suspensión de chile habanero para evaluar si esta sustancia tiene algún efecto en la acumulación de capsaicina.

Se determinó que de acuerdo al tratamiento de estrés utilizado, la acumulación de capsaicina y vainillina no mostraron un aumento significativo con respecto a los testigos, sin embargo, otros intermediarios de la ruta de biosíntesis, mostraron un incremento en 50 μM de metil jasmonato, a tiempos cortos, de hasta 48 hrs. de exposición al inductor; en este mismo tiempo y concentración se indujo de manera importante la acumulación de un compuesto mayoritario que en condiciones no inductivas solo está presente en pequeñas cantidades, posiblemente este compuesto esté relacionado con la defensa química de las plantas o bien corresponda a algún producto de una vía metabólica alterna, a donde pudieran estarse desviando los intermediarios necesarios para la síntesis de la capsaicina.