

# ÍNDICE

## Página

RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I</b>	3
ANTECEDENTES	3
I.1. GENERALIDADES	3
I.2. FOSFOLIPASA C (PLC)	4
I.3. LÍPIDO CINASAS	6
I.4. FAMILIA <i>Solanaceae</i>	8
I.5. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE: <i>Capsicum chinense</i> Jacq	10
I.6. ÁCIDO SALICÍLICO (SA)	11
I.6.1. ÁCIDO SALICÍLICO Y LA RESISTENCIA A ENFERMEDADES	12
I.7. ÁCIDO JASMÓNICO (JA) Y METILJASMONATO (MeJA)	13
I.8. CAPSAICINOIDES Y SU PUNGENCIA EN FRUTOS DE CHILE	14
I.8.1. PROPIEDADES Y USOS DE LOS CAPSAICINOIDES	16
I.8.2. BIOSÍNTESIS DE LOS CAPSAICINOIDES	17
I.8.3. REGULACIÓN HORMONAL EN LA ACUMULACIÓN DE CAPSAICINA	19
<b>CAPÍTULO II</b>	20
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS PARTICULARES	20
HIPÓTESIS	21
<b>CAPÍTULO III</b>	22
MATERIALES Y MÉTODOS	22
DISEÑO EXPERIMENTAL	22
III.1. MATERIALES	23
III.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO	23
III.1.2. REACTIVOS	23
III.2. METODOLOGÍA	24

III.2.1. CARACTERIZACIÓN DEL CICLO DE CULTIVO	24
III.2.2. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS MEMBRANALES CRUDOS	25
III.2.3. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA TOTAL	25
III.2.4. ENSAYO DE LÍPIDO CINASAS	27
III.2.5. EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE LÍPIDOS	28
III.2.6. MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE PLC	30
III.2.7. MEDICIÓN DE LA CAPSAICINA	31
III.2.8. TRATAMIENTOS CON EL SA Y EL MeJA	31
<b>CAPÍTULO IV</b>	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
IV.1. CARACTERIZACIÓN DEL CICLO DE CULTIVO	32
IV.2. MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA PLC	33
IV.3. MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS LÍPIDO CINASAS	37
IV.4. CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE CAPSAICINA	39
IV.5. EFECTO DEL SA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA PLC	42
IV.6. EFECTO DEL MeJA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA PLC	43
IV.7. EFECTO DEL SA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS LÍPIDO CINASAS	45
IV.8. EFECTO DEL MeJA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS LÍPIDO CINASAS	48
IV.9. EFECTO DEL SA SOBRE LOS NIVELES DE CAPSAICINA	49
IV.10. EFECTO DEL MeJA SOBRE LOS NIVELES DE CAPSAICINA	49
<b>CAPÍTULO V</b>	50
CONCLUSIONES	50
PERSPECTIVAS	51
APÉNDICE I	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

## RESUMEN

*Capsicum chinense* Jacq genera un metabolito secundario llamado capsaicina que es ampliamente utilizado en la industria alimenticia como condimento, aderezo y colorante y en la industria farmacéutica por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas. Sin embargo, el obtener la capsaicina directamente del fruto de *C. chinense* Jacq., requiere de un período prolongado y depende de las condiciones que rodean a la planta. Es por ello que el cultivo de células en suspensión de *C. chinense* Jacq provee una alternativa para generar compuestos secundarios como la capsaicina, para esto es necesario conocer el sistema que regula la acumulación de la capsaicina; pues solo teniendo un conocimiento profundo de lo que sucede en el interior de las células es posible manipular un sistema y de esta manera tener una aplicación a nivel industrial.

Para conocer si existe una relación entre las principales enzimas que proporcionan una respuesta intracelular y la variación de los niveles de capsaicina cuando son expuestas a inductores como el ácido salicílico (SA) o el metiljasmonato (MeJA) las suspensiones celulares de *C. chinense* Jacq., se analizó la actividad específica de la fosfolipasa C (PLC), la actividad de la fosfatidilinositol 4-cinasa, la fosfatidilinositol monofosfato 5-cinasa y la diacilglicerol (DAG) cinasa y los niveles de capsaicina. Estas actividades enzimáticas fueron determinadas durante un ciclo de cultivo y se encontró que varían a lo largo del ciclo de cultivo. Al realizar los tratamientos con 250  $\mu$ M de SA y 250  $\mu$ M de MeJA a las suspensiones celulares de *C. chinense* Jacq., se encontró un efecto diferencial sobre la actividad de la PLC ya que el SA estimula la formación de inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) mientras que el MeJA la inhibe. Ambos inductores inhiben la formación de fosfatidilinositol 4-monofosfato (PIP), fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ) y ácido fosfatídico (PA), lo que sugiere la inhibición de las lípido cinasas. Estos tratamientos inhiben la formación de capsaicina. Los estudios generados en este trabajo nos indican que probablemente exista una relación entre las principales enzimas involucradas con la respuesta intracelular y la variación de la capsaicina.