



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN
ESCUELA DE QUIMICA

ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO DE
CELULAS EN SUSPENSION DE ANTERAS
DE Canavalia ensiformis L.

T E S I S

PRESENTADA POR:

LIZBETH ARIANELLY CASTRO CONCHA

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO,
1986

F.969
BIBLIOTECA CICY

BIBLIOTECA CICY

1986

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
I ANTECEDENTES	3
A. Descripción de la planta	3
1. Taxonomía	3
2. Distribución	5
3. Composición química	5
4. Agronomía	5
5. Usos de <u>Canavalia ensiformis</u> L.	8
6. Limitaciones	8
7. Alternativas	16
B. El cultivo de células vegetales	16
1. Antecedentes históricos	16
2. Factores que influyen en todas las etapas del cultivo de tejidos	19
3. Inducción del cultivo <u>in vitro</u> en medio sólido	20
4. Iniciación del cultivo en medio líquido	21
5. Mantenimiento de un cultivo en medio sólido	21
6. Mantenimiento de un cultivo en medio líquido	22
7. Cultivos haploides	23
OBJETIVOS	27
DISEÑO EXPERIMENTAL	27
II MATERIALES	28
A. Reactivos	28
B. Material biológico	28
C. Material de vidrio y equipo	28
1. Aparatos	28
2. Accesorios	29
III METODOS	30
A. Preparación de las soluciones madre para preparar los medios de cultivo	30

	Pág.
B. Preparación de los medios de cultivo	30
1. Medios con diferentes complejos orgánicos	31
2. Medios con diferentes relaciones nitrato/amonio	31
3. Medios con variación en la concentración de fosfatos	31
4. Medios con variación en la concentración de la fuente de carbono	32
C. Esterilización del material biológico	32
D. Siembra del material biológico	33
E. Incubación del material biológico	33
F. Evaluaciones	33
IV RESULTADOS	37
A. Fase de inducción	37
1. Selección del medio de cultivo	37
2. Pretratamiento del material biológico	37
3. Esterilización del material biológico	38
4. Inducción del cultivo y determinación de la concentración óptima de las hormonas ANA/6-BAP	38
B. Fase de mantenimiento en medio sólido	41
1. Selección del medio de cultivo	41
2. Determinación de la concentración óptima de las hormonas ANA/6-BAP	41
3. Utilización de complejos orgánicos	43
4. Determinación de la concentración óptima de las hormonas ANA/6-BAP	46
5. Curva de crecimiento en medio sólido	48
C. Fase de mantenimiento en medio líquido	52
1. Establecimiento del cultivo	52
2. Curva de crecimiento en medio líquido	52
3. Evaluación del crecimiento en medio líquido en cuanto a la composición del medio	58
4. Cuantificación de clorofila	64

CONCLUSIONES	Pág.
ANEXO I	67
ANEXO II	68
BIBLIOGRAFIA	70
	72

Pág.

67

68

70

72

ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION DE ANTERAS DE Canavalia ensiformis L.

SINOPSIS

Canavalia ensiformis L. es una leguminosa que se adapta favorablemente a las condiciones ambientales de la Península de Yucatán, produciendo altos rendimientos de grano, su aprovechamiento es limitado a pesar de su alto contenido proteico por la presencia de dos aminoácidos no proteicos altamente tóxicos: canavanina y cana_lina.

Los experimentos tendientes a la eliminación de componentes tóxicos en plantas han sido abordados mediante diferentes metodologías, entre las cuales se encuentran el cultivo de tejidos vegetales, el cual hemos seleccionado ya que en las especies en las cuales ha sido posible la rediferenciación de plantas, esta tecnología ha mostrado su potencialidad para la obtención de variabilidad genética.

En este trabajo se discuten las condiciones para el establecimiento de cultivos en suspensión de anteras de C. ensiformis. Para la fase de inducción de callos se utilizó el medio B5 con 10 μ M de ANA y 10 μ M de 6-BAP. La fase de mantenimiento en medio sólido se estableció en medio LS con la utilización de complejos orgánicos, específicamente el extracto de zanahoria con el cual los cultivos incrementan su peso seco en un 50%. Para el establecimiento de los cultivos en suspensión se utilizó el medio LS con una concentración de 2 p.p.m. de ANA y 5 p.p.m. de 6-BAP, y con el propósito de optimizar las condiciones de mantenimiento se probaron diferentes concentraciones de sacarosa, fosfato y nitrógeno del medio.